

**VETAGRO SUP  
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON**

Année 2020 - Thèse n°018

***ÉCOLOGIE ET CARACTERISATION DE L'INFECTION PAR  
LEPTOSPIRA EN POPULATIONS DE MAMMIFERES SAUVAGES  
ISSUES DE SITES D'ELEVAGE DE RUMINANTS : ENQUETE DE  
TERRAIN EN REGION RHONE-ALPES, DE 2018 A 2020***

**THESE**

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I  
(Médecine - Pharmacie)  
et soutenue publiquement le 11 septembre 2020  
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

*HER Rebecca*



VetAgro Sup





**VETAGRO SUP  
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON**

Année 2020 - Thèse n°018

***ÉCOLOGIE ET CARACTERISATION DE L'INFECTION PAR  
LEPTOSPIRA EN POPULATIONS DE MAMMIFERES SAUVAGES  
ISSUES DE SITES D'ELEVAGE DE RUMINANTS : ENQUETE DE  
TERRAIN EN REGION RHONE-ALPES, DE 2018 A 2020***

**THESE**

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I  
(Médecine - Pharmacie)

et soutenue publiquement le 11 septembre 2020  
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

*HER Rebecca*



VetAgro Sup





## Liste des Enseignants du Campus Vétérinaire de Lyon (01-09-2019)

ABITBOL	Marie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
ARCANGIOLI	Marie-Anne	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
AYRAL	Florence	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BECKER	Claire	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BELLUCO	Sara	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
BENAMOU-SMITH	Agnès	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
BENOIT	Etienne	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BERNY	Philippe	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BOULOCHER	Caroline	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BOURDOISEAU	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
BOURGOIN	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BRUYERE	Pierre	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BUFF	Samuel	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BURONFOSSE	Thierry	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
CACHON	Thibaut	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
CADORÉ	Jean-Luc	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
CAROZZO	Claude	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
CHABANNE	Luc	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
CHALVET-MONFRAY	Karine	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
DE BOYER DES ROCHES	Alice	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
DELIIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
DJELLOUADJI	Zorée	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
ESCRIOU	Catherine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
FRIKHA	Mohamed-Ridha	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GALIA	Wessam	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GILOT-FROMONT	Emmanuelle	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
GONTHIER	Alain	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GRANCHER	Denis	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
GREZEL	Delphine	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
HUGONNARD	Marine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
JANKOWIAK	Bernard	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
JOSSON-SCHRAMME	Anne	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
JUNOT	Stéphane	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
KODJO	Angeli	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
KRAFFT	Emilie	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
LAABERKI	Maria-Halima	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LAMBERT	Véronique	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LE GRAND	Dominique	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
LEBLOND	Agnès	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
LEDOUX	Dorothée	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LEFEBVRE	Sébastien	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LEGROS	Vincent	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LEPAGE	Olivier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
LOUZIER	Vanessa	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
MARCHAL	Thierry	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
MOISSONNIER	Pierre	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
MOUNIER	Luc	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
PEPIN	Michel	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
PIN	Didier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
PONCE	Frédérique	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
PORTIER	Karine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
POUZOT-NEVORET	Céline	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
PROUILLAC	Caroline	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
REMY	Denise	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
RENE MARTELLET	Magalie	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
ROGER	Thierry	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
SABATIER	Philippe	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
SAWAYA	Serge	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
SCHRAMME	Michael	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
SERGEANTET	Delphine	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
THIEBAULT	Jean-Jacques	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
THOMAS-CANCIAN	Aurélie	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
TORTEREAU	Antonin	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
VIGUIER	Eric	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
VIRIEUX-WATRELOT	Dorothée	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
ZENNER	Lionel	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur



## Remerciements au jury

**A Monsieur le Professeur Bruno SALLE,**

De l'université Claude Bernard Lyon 1, Faculté de médecine de Lyon,

Pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse,

Nos hommages respectueux.

**A Madame le Docteur Florence AYRAL,**

De VetAgro Sup, Campus vétérinaire de Lyon,

Pour vos explications et vos conseils tout au long de ce travail,

Nos sincères remerciements.

**A Monsieur le Docteur Gilles BOURGOIN,**

De VetAgro Sup, Campus vétérinaire de Lyon,

Pour nous avoir fait l'honneur de participer à notre jury de thèse,

Qu'il trouve ici l'expression de notre reconnaissance.









# Table des matières

Table des annexes.....	11
Table des figures .....	13
Table des tableaux.....	15
Liste des abréviations.....	17
Introduction.....	19
<b>I. Synthèse bibliographique.....</b>	<b>21</b>
<b>A. Leptospires et leptospirose.....</b>	<b>21</b>
1- Phylum et classification des leptospires.....	21
<i>a - Classification sérologique.....</i>	<i>21</i>
<i>b - Classification moléculaire.....</i>	<i>21</i>
2- Méthodes de détection des leptospires.....	22
<i>a - Méthodes de détection indirecte.....</i>	<i>22</i>
<i>b - Méthodes de détection directe.....</i>	<i>23</i>
<i>c - Techniques de séquençage.....</i>	<i>23</i>
<b>B. L'interface leptospires – bovins - animaux sauvages.....</b>	<b>23</b>
1- Excrétion de leptospires par les hôtes réservoirs.....	24
2- Maintien des leptospires dans l'environnement.....	24
3- Voies de transmission aux bovins et facteurs de risque en élevage.....	25
4- Souches de <i>Leptospira</i> identifiées en élevages bovins.....	25
<b>C. Le réservoir faune sauvage.....</b>	<b>27</b>
1- Description du portage rénal par la faune sauvage en France.....	27
2- Souches identifiées par espèces de la faune sauvage.....	29
3- Ecologie des espèces en contact avec les élevages bovins.....	30
<i>a - Identification des espèces en contact avec les élevages bovins.....</i>	<i>30</i>
<i>b - Comportement et niche écologique de ces espèces.....</i>	<i>31</i>
<b>II. Matériel et méthode.....</b>	<b>31</b>
<b>A. Etudes de terrain.....</b>	<b>32</b>
1- Ethique.....	32
2- Sites d'échantillonnage et collecte d'échantillons.....	32
3- Captures et prélèvements.....	32
<i>a - Cas des petits mammifères.....</i>	<i>32</i>
<i>b - Cas des fouines et ragondins.....</i>	<i>33</i>
4- Définition d'un individu infecté.....	33
5- Analyses moléculaires.....	34
<b>B. Etude descriptive.....</b>	<b>35</b>
1- Description de l'échantillonnage.....	35
<i>a - Paramètres descriptifs de l'échantillonnage.....</i>	<i>35</i>
<i>b - Proportions d'individus infectés observées.....</i>	<i>35</i>

2-	Cartographie des sites de piégeage .....	35
<b>C.</b>	<b>Etude analytique .....</b>	<b>36</b>
1-	Modèles de régression logistique .....	36
a -	<i>Définition des variables : variable réponse et variables explicatives.....</i>	<i>36</i>
b -	<i>Régressions logistiques de Firth .....</i>	<i>36</i>
2-	Sélection de modèle sur AICc .....	36
a -	<i>Hypothèses de départ .....</i>	<i>36</i>
b -	<i>Choix d'un classement sur AICc .....</i>	<i>37</i>
c -	<i>Evaluation des modèles sur critères graphiques.....</i>	<i>37</i>
3-	Estimations prédites par un modèle de régression logistique.....	37
4-	Inférence multimodèle.....	38
a -	<i>Principe de l'inférence multimodèle .....</i>	<i>38</i>
b -	<i>Estimations par inférence multimodèle .....</i>	<i>38</i>
c -	<i>Calcul d'incertitude relative à l'inférence multimodèle .....</i>	<i>38</i>
<b>III.</b>	<b>Résultats .....</b>	<b>39</b>
<b>A.</b>	<b>Étude descriptive.....</b>	<b>39</b>
1-	Description de la population d'échantillonnage .....	39
a -	<i>Échantillonnage de petits mammifères.....</i>	<i>39</i>
b -	<i>Échantillonnage de fouines et ragondins .....</i>	<i>40</i>
2-	Distribution des individus infectés .....	40
a -	<i>Cas des petits mammifères .....</i>	<i>40</i>
b -	<i>Cas des fouines et ragondins.....</i>	<i>42</i>
3-	Distribution spatiale des piégeages .....	42
<b>B.</b>	<b>Etude analytique .....</b>	<b>44</b>
1-	Sélection de modèle sur AICc .....	44
a -	<i>Établissement d'un ensemble de modèles .....</i>	<i>44</i>
b -	<i>Sélection de modèle sur AICc.....</i>	<i>44</i>
c -	<i>Critères d'évaluation graphiques du modèle sélectionné .....</i>	<i>44</i>
d -	<i>Estimations du modèle « Sexe*Saison ».....</i>	<i>46</i>
2-	Inférence multimodèle.....	46
a -	<i>Justification de l'inférence multimodèle .....</i>	<i>46</i>
b -	<i>Estimations des proportions d'individus positifs .....</i>	<i>47</i>
c -	<i>Calcul d'incertitude relative à l'inférence multimodèle .....</i>	<i>47</i>
d -	<i>Comparaison des résultats du meilleur modèle de régression logistique avec ceux de l'inférence multimodèle.....</i>	<i>48</i>
<b>IV.</b>	<b>Discussion .....</b>	<b>49</b>
	Conclusion.....	52
	Bibliographie.....	55
	Annexes.....	61

# Table des annexes

<b>Annexe 1.</b> Distribution spatiale des sites d'étude : résultats sur les élevages bovins (négatif, séro groupe Australis, séro groupe Sejroe), numéros d'individus fouines et ragondins, sites de captures de petits mammifères (CLC 2012, Eu Rivières 2015). ....	61
<b>Annexe 2.</b> Caractéristiques biologiques et comportementales des espèces de l'étude (Quééré, Le Louarn, 2011).....	62
<b>Annexe 3.</b> Exemple de pose de pièges pour la session de captures numéro 4 au site A (Source : Google Maps, consulté en mars 2020).....	62
<b>Annexe 4.</b> Exemple de pose de pièges pour la session de captures numéro 4 au site B (Source : Google Maps, consulté en mars 2020).....	63
<b>Annexe 5.</b> Représentation cartographique des sites de piégeages de fouines et ragondins et de la distribution spatiale des individus infectés (CLC 2018).....	63
<b>Annexe 6.</b> Typologies des pâtures utilisées pour les captures de petits mammifères. ....	64
<b>Annexe 7.</b> Répartition des typologies des sites de capture aux élevages A et B (CLC 2018).....	64
<b>Annexe 8.</b> Typologies des sites de captures de fouines et ragondins (CLC 2018).....	65
<b>Annexe 9.</b> Répartition des typologies des sites de piégeages de fouines et ragondins entre les 3 communes de piégeages (CLC 2018). ....	66
<b>Annexe 10.</b> Extraits du script utilisé dans le logiciel R 3.6.3 : sélection de modèles, exemple de calcul d'estimation par inférence multimodèle, exemple de calcul de l'erreur standard de l'estimation issue de l'inférence multimodèle. ....	66
<b>Annexe 11.</b> Définition du critère d'AICc. ....	69
<b>Annexe 12.</b> Formule de la fonction de lien logit. ....	69
<b>Annexe 13.</b> Formule de la variance inconditionnelle associée à chaque estimation de l'inférence multimodèle. ....	69
<b>Annexe 14.</b> Prévalences apparentes par stade de maturité sexuelle sur les petits mammifères (x=nombre d'individus infectés, n=nombre de captures).....	70
<b>Annexe 15.</b> Prévalences apparentes par espèces de petits mammifères (x=nombre d'individus infectés, n=nombre de captures). ....	71
<b>Annexe 16.</b> Prévalences apparentes par sexe des petits mammifères (x=nombre d'individus infectés, n=nombre de captures). ....	72
<b>Annexe 17.</b> <i>Sex ratio</i> des petits mammifères capturés au cours des sessions. ....	72
<b>Annexe 18.</b> Représentation graphique des prévalences apparentes par stade de maturité des petits mammifères au cours des sessions (immatures, matures). ....	73

<b>Annexe 19.</b> Représentation graphique des prévalences apparentes par sexe des petits mammifères au cours des sessions (femelles, mâles).....	73
<b>Annexe 20.</b> Sélection par AICc à partir d'un ensemble de 19 modèles de régression logistique à réduction de biais (régressions logistiques de Firth). .....	74
<b>Annexe 21.</b> Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs attendues par le modèle de régression logistique de Firth « Sexe*Saison ». .....	75
<b>Annexe 22.</b> Graphique des résidus de déviance standardisés en fonction de l'ordre d'apparition des observations pour le modèle de régression logistique de Firth « Sexe*Saison ». .....	75
<b>Annexe 23.</b> Courbe ROC du modèle de régression logistique de Firth « Sexe*Saison ». .....	76
<b>Annexe 24.</b> Estimations des proportions d'individus infectés attendues par le modèle de régression logistique de Firth « Sexe*Saison ». .....	76
<b>Annexe 25.</b> Estimations issues de l'inférence multimodèle (cr= crocidure, ca=campagnol, mul=mulot ; imm=immature, mat=mature ; A=site A, B=site B). .....	77
<b>Annexe 26.</b> Distribution du pourcentage d'incertitude lié à la sélection de modèles de l'inférence multimodèle. ....	78
<b>Annexe 27.</b> Exemple de modalités à pourcentages d'incertitude élevés sur les estimations issues de l'inférence multimodèle. ....	79
<b>Annexe 28.</b> Représentation graphique des estimations issues de l'inférence multimodèle.....	79

# Table des figures

<b>Figure 1.</b> Illustration de l'interface étudiée : place de la faune sauvage en environnement d'élevage bovin dans le cycle épidémiologique des leptospires. ....	20
<b>Figure 2.</b> Sérogroupes identifiés en élevages bovins en France. Sources :Ayrat, 2016 ; Gazso, 2017 ; Delaborde, 2019. ....	27
<b>Figure 3.</b> Taux de portage rénal par espèces de la faune sauvage en France (*: <i>Castor fiber, Glis glis, Marmota Spermophilus</i> ). Sources : Michel et al, 2001 ; Aviat et al, 2008 ; Vein et al, 2013 ; Ayrat et al, 2016 ; Ayrat et al, 2020. ....	28
<b>Figure 4.</b> Souches identifiées dans la faune sauvage (*: <i>Microtus Arvalis, Microtus agrestis, Myodes glareolus, Apodemus flavicollis, Sorex araneus</i> ). Sources : Fromental, 2004 ; Fischer, 2008 ; Ayrat, 2016 ; Ayrat, 2020.....	29
<b>Figure 5.</b> Répartition par espèces des petits mammifères capturés sur les pâtures (A = site A, B = site B, 1 à 8: numéros de sessions). Source : réalisée d'après l'auteur.....	39
<b>Figure 6.</b> Prévalences d'individus infectés par espèces par session. Source : réalisée d'après l'auteur.....	41
<b>Figure 7.</b> Prévalences d'individus infectés par sexe au cours des saisons. Source : réalisée d'après l'auteur. ....	41
<b>Figure 8.</b> Distribution des sérovars identifiés par VNTR, par espèces de petits mammifères. Source : réalisée d'après l'auteur. ....	42
<b>Figure 9.</b> Représentation cartographique des sites de captures de petits mammifères par des diagrammes : nombre d'individus infectés et nombre d'individus non infectés par session et site (CLC 2018). Source : réalisée d'après l'auteur. ....	43
<b>Figure 10.</b> Graphique des résidus standardisés de déviance en fonction des valeurs attendues par le modèle « Sexe*Saison ». Source : réalisée d'après l'auteur. ....	45
<b>Figure 11.</b> Graphique des distances de Cook en fonction du poids levier pour le modèle de régression logistique de Firth « Sexe*Saison ». Source : réalisée d'après l'auteur. ....	45
<b>Figure 12.</b> Estimations des probabilités d'infection par sexe et saison par le modèle de régression logistique de Firth « Sexe*Saison » issu de la sélection selon l'AICc. Source : réalisée d'après l'auteur. ....	46
<b>Figure 13.</b> Représentation graphique des estimations issues de l'inférence multimodèle pour le stade de maturité sexuelle immature et pour le site A. Source : réalisée d'après l'auteur. ....	47





# Table des tableaux

<b>Tableau I.</b> Principales leptospires pathogènes identifiées en France, d'après la classification sérologique. Sources :Levett, 2001 ; Kodjo, 2017. ....	21
<b>Tableau II.</b> Caractéristiques et critères de reconnaissance des petits mammifères de l'étude. Source : Quéré et Le Louarn,2011. ....	31
<b>Tableau III.</b> Sex ratio des petits mammifères par session de capture. Source : réalisé d'après l'auteur.....	40
<b>Tableau IV.</b> Répartition des individus capturés par les associations de piégeurs par espèces et communes. Source : réalisé d'après l'auteur.....	40
<b>Tableau V.</b> Prévalence de l'infection par espèce, sexe et stade de maturité. Source : réalisé d'après l'auteur. ....	42



# Liste des abréviations

AIC	Critère d'Information d' Akaike
AICc	Critère d'Information d' Akaike avec correction pour les petits effectifs
ADN	Acide désoxyribonucléique
ATU	Autorisation Temporaire d'Utilisation
AUS	Australis (séro groupe)
BRAT	Bratislava (séro groupe)
CLC	<i>Corine Land Cover</i>
CNR	Centre National de Référence
DGAL	Direction Générale de l'Alimentation
EJMH	Ellinghausen et. McCullough modifié par Johnson et Harris (milieu de culture)
ELISA	<i>Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay</i>
g	grammes
IgG	Immunoglobulines de type G (anticorps)
IgM	Immunoglobulines de type M (anticorps)
INRAe	Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement
Km	kilomètres
LNR	Laboratoire National de Référence
MAT	<i>Microscopic Agglutination Test</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
OIE	Organisation mondiale de la santé animale
VetAgro Sup Lyon	Ecole vétérinaire de Lyon
UV	Rayonnements ultra-violet
°C	Degrés Celsius



# Introduction

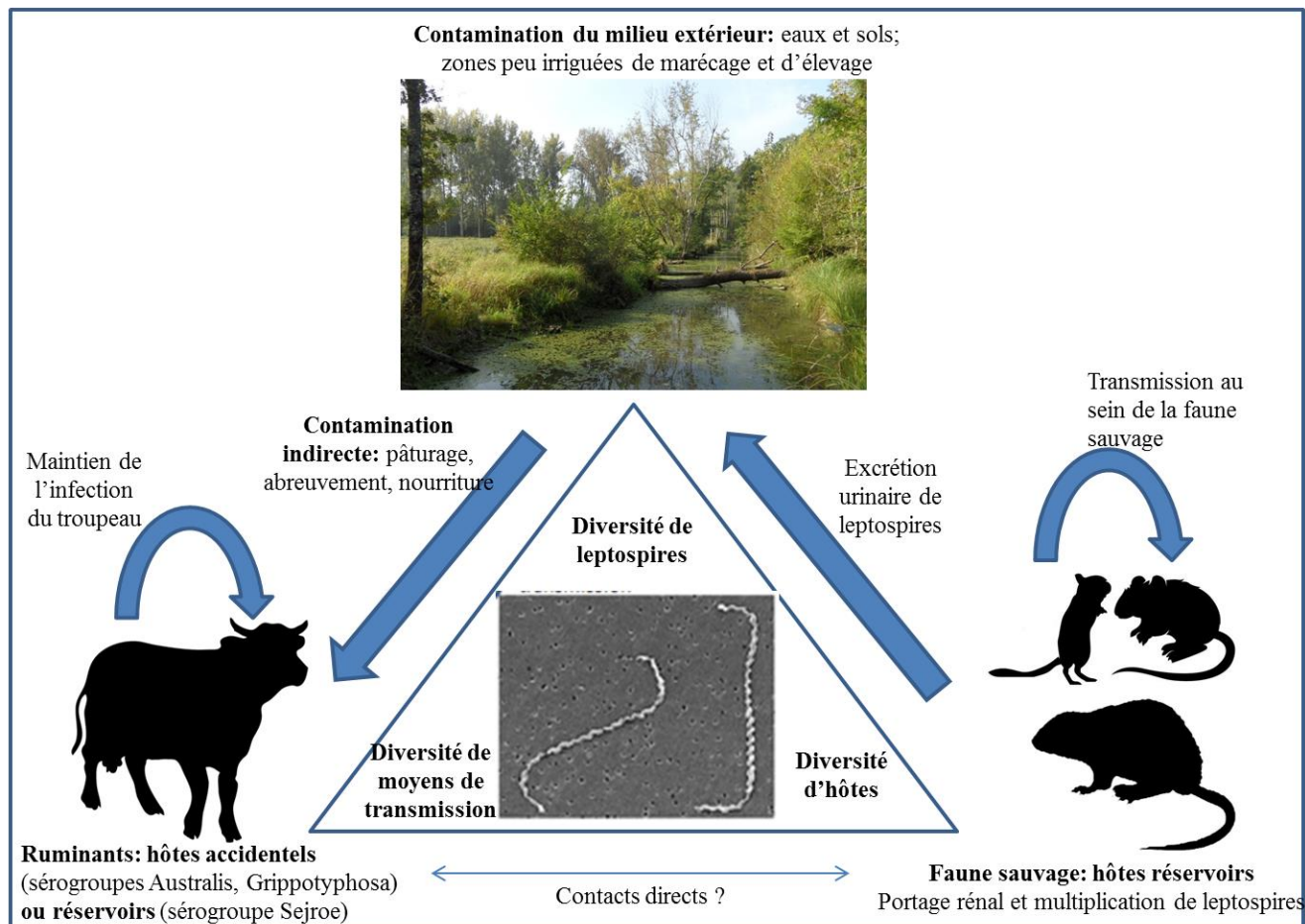
La leptospirose est une maladie zoonotique aux conséquences majeures sur la santé publique. Chaque année, près de 500 000 cas sévères, parmi 1.03 millions de cas recensés, sont enregistrés à l'échelle mondiale, avec un taux de mortalité de 5 à 20%, soit un nombre de décès dus à la leptospirose estimé à 58 900 par an (Costa F. et al., 2015a; Levett P., 2001). Des formes graves, d'hémorragies pulmonaires et rénales, aggravent le pronostic de cette maladie (Bharti A. et al., 2003). Cette zoonose est causée par des bactéries du genre *Leptospira*. Elle est associée à une épidémiologie complexe car les espèces animales hôtes sont multiples et la transmission a une composante environnementale forte (Bharti A. et al., 2003). Les animaux domestiques et en particulier les ruminants et porcins peuvent être hôtes de *Leptospira*. L'activité en élevage est un contexte favorable à la transmission de leptospires entre les animaux domestiques et l'homme (Abadia G. et al., 2005). L'infection en élevage est, de plus, associée à des pertes économiques non négligeables pour l'éleveur (Ayrat F., 2013). Réduire les infections des ruminants permettrait donc de réduire le risque des cas humains acquis en élevage et de réduire les pertes économiques. Plusieurs alternatives existent pour prévenir l'infection par les leptospires en élevage, dont des mesures sanitaires. Les mesures sanitaires visant la réduction de l'exposition des bovins aux leptospires doivent pouvoir s'appuyer sur la connaissance des populations hôtes infectées en interaction avec le milieu de l'élevage. En effet, une meilleure connaissance des caractéristiques du portage de leptospires en populations hôtes permettra *in fine* de proposer des modes de conduite des troupeaux raisonnés pour réduire le risque d'exposition des bovins.

Un écosystème est l'ensemble des interactions entre les êtres vivants au sein d'un milieu spécifique. Au sein de l'écosystème, ici constitué d'élevages bovins en région tempérée, il existe une multitude d'interfaces c'est-à-dire des zones de contact entre plusieurs espaces différenciés engendrant des dynamiques d'échange entre ces espaces. Etudier les leptospires à l'interface entre les bovins, la faune sauvage et leur environnement permet donc une description holistique de la présence de leptospires dans cet écosystème. Trois pôles caractérisent cette interface, (1) le troupeau bovin, (2) les populations de mammifères sauvages, et (3) la zone de contact, à savoir l'environnement. Ces trois éléments, en interaction, sont représentés dans la figure 1. Un premier volet d'étude ciblant le pôle « troupeau bovin » a été réalisé précédemment (Delaborde, 2019). Le volet présenté dans ce rapport s'intéresse au pôle « faune sauvage » et en particulier à l'écologie de l'infection par les leptospires parmi les populations de mammifères sauvages issues de sites d'élevages bovins. L'écologie de l'infection par les leptospires est ici entendue comme l'étude des liens entre les populations sauvages infectées *vs* non infectées et l'environnement et inclut les caractéristiques des populations infectées *vs* non infectées.

Cette étude entre dans le cadre du projet de travail du Pôle d'Expertise Vétérinaire et Agronomique des Animaux Sauvages (<http://evaas.vetagro-sup.fr/>) (2018 – 2021), lot de travail 1.3 intitulé Plan de surveillance pour la détection précoce de risques d'émergence de maladies infectieuses à partir de réservoirs sauvages : application à la leptospirose des rongeurs. Son financement est principalement issu de la DGAL, de VetAgro Sup Lyon et de l'INRAe. La présente thèse d'exercice vétérinaire rapporte l'ensemble des travaux engagés dans le volet faune sauvage de l'étude InterLept. Ces travaux étaient de trois types, une étude bibliographique sur la distribution des leptospires pathogènes à l'interface de la faune sauvage, de la faune domestique et de l'environnement, un travail de terrain dont l'objectif

était l'échantillonnage de mammifères sauvages pendant deux ans, 2018 à 2020, et l'analyse des données collectées à partir du travail de terrain. L'analyse des données a été valorisée dans le cadre d'un mémoire de Master 2 Gestion Intégrée des Maladies Animales Tropicales réalisé par l'auteur (Her R., 2020).

La figure 1, ci-dessous, représente les trois pôles de l'interface étudiée et illustre le contexte de l'étude.



**Figure 1.** Illustration de l'interface étudiée : place de la faune sauvage en environnement d'élevage bovin dans le cycle épidémiologique des leptospires.

Sources : Ellis, 2005 ; Costa b, 2015 ; Adler, 2015 ; Ayrat, 2016 ; Fischer, 2018.

Crédits photo : Public Health Image Library, ARL riviere-environnement, Vecteezy.com.

Le réservoir d'une maladie ou d'une infection est défini comme une population et/ou environnement dans lesquels l'agent pathogène persiste sur des périodes prolongées et à partir desquels une population cible peut se contaminer (Haydon D. et al., 2002). Nous chercherons, ici, à identifier des populations sources de leptospires et potentiellement réservoirs de l'infection bovine parmi des espèces de la faune sauvage coexistant dans le milieu de l'élevage. Dans ce manuscrit, un hôte accidentel est défini comme un individu qui agit comme une impasse épidémiologique et évolue soit vers la guérison soit vers le décès. Les bovins seraient hôtes accidentels de certains sérogroupes (par exemple, Australis et Grippytyphosa) et une population cible de réservoirs sauvages. L'environnement a ici un double rôle de surface de contact commune avec les bovins et les petits mammifères mais aussi de réservoir inerte de leptospires excrétées par les différentes populations infectées.

# I. Synthèse bibliographique

## A. Leptospires et leptospirose

### 1- Phylum et classification des leptospires

Les leptospires sont des bactéries de l'ordre des Spirochetales, de la famille *Leptospiraceae*, et du genre *Leptospira*. Deux méthodes de classification existent aujourd'hui, la classification sérologique et la classification moléculaire. Nous allons en développer les principes et usages.

#### a - Classification sérologique

Il existe une grande variabilité antigénique au sein du genre *Leptospira* (Levett P., 2015). Pour distinguer les différents éléments de ce genre, une classification sérologique des leptospires a été établie. Cette classification repose sur la détection d'anticorps agglutinants induits par les antigènes de leptospires. Un sérovar correspond à une entité possédant une unité antigénique. Certains groupes de sérovars possèdent entre eux une communauté antigénique forte. Ces groupes à déterminants antigéniques communs sont qualifiés de sérogroupes. Aujourd'hui plus de 300 sérovars sont décrits, parmi 25 sérogroupes (Levett P., 2015).

La classification sérologique est employée en épidémiologie et en clinique. L'information du sérotype et/ou du sérovar peut donner une indication de l'espèce animale source bactérienne et constitue un indicateur de la sévérité de la maladie. En effet, les souches appartenant à un sérovar ou sérotype donné sont responsables de formes cliniques de sévérité variable (Levett P., 2015). Les principales souches de *Leptospira* identifiées en France sont regroupées dans le tableau I ci-dessous.

**Tableau I.** Principales leptospires pathogènes identifiées en France, d'après la classification sérologique. Sources :Levett, 2001 ; Kodjo, 2017.

Sérotype	Sérovars
Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae, Copenhageni
Canicola	Canicola
Australis	Australis, Bratislava, Muenchen
Autumnalis	Autumnalis, Bim
Grippotyphosa	Grippotyphosa, Vanderhoeni
Pyrogenes	Pyrogenes
Sejroe	Hardjo, Saxkoebing, Wolfi, Sejroe, Hardjo (bovis), Saxkoebing
Pomona	Pomona, Mozdok
Ballum	Ballum
Tarassovi	Tarassovi
Javanica	Javanica

#### b - Classification moléculaire

Au sein d'un même sérotype, une diversité génétique existe. Une seconde classification, basée sur la séquence du gène de ménage *16S*, a été élaborée. Actuellement, 64 espèces génomiques sont reconnues et sont désormais classées en deux groupes, les espèces

pathogènes et les espèces saprophytes. On recense aujourd'hui 37 leptospires pathogènes, il s'agit de souches pour lesquelles la virulence a été constatée in vivo. Les espèces saprophytes, au nombre de 27, ont été isolées à partir de l'environnement, et sont des souches pour lesquelles la virulence n'a pas été décrite jusque-là (Vincent A. et al., 2019).

L'indentification moléculaire est utilisée en recherche phylogénétique (Tamura K. et al., 2011) et lors d'enquêtes épidémiologiques, le niveau de caractérisation des souches étant plus fin selon la classification moléculaire, notamment par l'application de méthodes de séquençage.

## 2- Méthodes de détection des leptospires

Chez l'Homme, un individu symptomatique est infecté depuis 12 à 20 jours, durée d'incubation de la leptospirose (Adler, 2010). La leptospirémie est transitoire et dure moins d'une semaine post-infection (Levett P., 2001). Les anticorps (IgM) sont décelables dans le sang à partir de 10 jours post-infection (Adler, 2010). La leptospirurie, ou excrétion de leptospires dans les urines, ne débute qu'à partir de la 2<sup>ème</sup> semaine post-infection, et peut persister, par phases intermittentes, plusieurs mois après guérison clinique du sujet (Levett P., 2001).

Différents tests directs et indirects existent pour statuer sur l'infection ou l'exposition d'un individu et doivent être utilisés selon le stade de l'infection. Ils présentent des applications cliniques et/ou épidémiologiques.

### a - Méthodes de détection indirecte

Les tests indirects permettent de détecter la réponse du système immunitaire d'un individu suite à l'infection par des leptospires pathogènes. Toutefois la présence d'anticorps anti-leptospires peut être la conséquence d'une infection en cours ou passée. Pour cette raison, la présence d'anticorps atteste *a minima* de l'exposition de l'individu aux leptospires. On distingue principalement le MAT (test de micro-agglutination sur sérum) et l'ELISA (dosage immuno-enzymatique).

Le MAT est la méthode de référence pour le diagnostic sérologique de la leptospirose. Ce test consiste à évaluer au microscope à fond noir le pourcentage d'agglutination de suspensions de souches représentatives de différents sérogroupes de leptospires en présence de différentes dilutions du sérum du patient. Le MAT est une épreuve spécifique de séro groupe : le panel d'antigènes utilisés doit inclure des sérovars représentatifs de tous les sérogroupes ainsi que tous les sérovars communs dans la zone géographique d'origine de l'individu testé. Des réactions croisées, de coagglutination, peuvent apparaître entre sérovars, du fait de nombreux antigènes communs entre leptospires (Levett P., 2001). La lecture requiert de l'expérience et une variabilité entre opérateurs a été décrite (Miller M.D. et al., 2011). Cette méthode permet de déterminer le séro groupe infectant (Levett, 2003).

Le test ELISA consiste en la détection d'antigènes dans le sérum, visualisée par une réaction immuno-enzymatique. Ce test cible certains sérovars spécifiques, Hardjo et Pomona chez les bovins (Levett P., 2001). Ce test indirect présente l'avantage d'être rapide et facilement observable au pied de l'animal. La sensibilité du test en élevage bovin n'est pas satisfaisante: le résultat ne suffit souvent pas à lui seul, un test MAT complémentaire est requis pour confirmation du diagnostic (Tresse L., 2009).



## **b - Méthodes de détection directe**

Différents tests directs sont employés pour détecter les leptospires, soit par visualisation de la bactérie soit par mise en évidence de ses acides nucléiques (ADN). Ces méthodes sont l'observation au microscope sur fond noir, la mise en culture et les méthodes de réactions de polymérase en chaîne (PCR), tests d'amplification enzymatique des acides nucléiques.

L'observation de leptospires par microscopie sur fond noir permet de visualiser des leptospires mobiles et requiert peu de matériel. Ce test présente de faibles spécificité et sensibilité. Des méthodes de marquage, par immunoperoxydase, sur sang et urine en améliore la sensibilité (Levett P., 2001). La culture consiste en l'incubation sur plusieurs jours d'un échantillon en milieu de culture (milieu EJM). La mise en culture est la méthode de détection la plus spécifique et constitue un diagnostic de certitude. Elle est longue et nécessite une lecture régulière. La méthode est chronophage et de faible sensibilité car les leptospires sont fragiles. Les PCR, méthodes de mise en évidence d'ADN de leptospires, permettent de distinguer un individu d'infecté aux leptospires d'un individu sain. La PCR point final consiste en l'amplification d'un fragment de génome codant la sous-unité *16S* de l'ARN ribosomal (ARNr) et est essentiellement utilisé en raison de portions du gène conservée dans toutes les bactéries du genre *Leptospira*. Cette méthode ne distingue pas les leptospires pathogènes des leptospires saprophytes. La détermination de l'espèce par séquençage du gène *16S* permet d'en faire la distinction. La PCR en temps réel sur gène *LipL32*, par exemple, présente l'avantage par rapport à la PCR point final d'être plus rapide et son résultat est moins dépendant des contaminations (Picardeau M., 2013).

## **c - Techniques de séquençage**

Le séquençage, permettant l'identification complète de la bactérie, est réalisé par le Centre National de Référence de la leptospirose en France (CNR). En raison de son coût important, des méthodes alternatives de séquençage partiel ont été développées pour répondre aux trois questions suivantes: le profil génétique correspond-il à (1) une espèce de *Leptospira connue*; (2) un agent pathogène ou un saprophyte; et (3) un sérotype et un sérovar connu.

L'analyse du nombre variable de répétitions en tandem (VNTR), aussi qualifiée d'analyse VNTR sur loci multiples (MLVA), s'avère être une méthode discriminante pour l'étude structurelle des populations bactériennes. Les différentes souches de leptospires sont caractérisées grâce à la variabilité du nombre de répétitions en tandem (successions de motifs ADN non codants répétées) sur chacun des 3 à 5 loci à fort degré de polymorphisme. Parmi les sérovars de *L.interrogans* et de *L. kirschneri* connus, 92% et 90% respectivement, peuvent aujourd'hui être identifiés par la VNTR (Salaun L. et al., 2006). L'espèce *L. borgpetersenii* est constituée de moins de répétitions en tandem, une méthode sur deux sets d'amorces permet de discriminer 60% des sérovars (Salaun L. et al., 2006).

Une technique de séquençage MST (*Multi Locus Sequence Typing*) a été développée dans le cadre du génotypage de *Leptospira* (Ahmed N. et al., 2006). Il s'agit d'une méthode basée sur la comparaison de séquences ADN de quatre gènes domestiques. Plus récemment, le Multispacer Sequence Typing (MST) est apparu comme une nouvelle méthode de génotypage, qui est basée sur la comparaison des séquences de nucléotides de plusieurs régions intergéniques. Les régions semblent être plus variables que les gènes codants, étant moins soumis à la pression de la sélection. Cette approche a été développée pour les leptospires de l'espèce *L.interrogans* (Zilber A.-L. et al., 2014).

Le typage VNTR est à même de fournir une méthode pratique et simple pour définir un apparentement à un sérovar de *L. interrogans*, *L. kirshneri* ou de *L. borgpetersenii*. Le séquençage est appliqué au domaine de la recherche, et permet de préciser les connaissances épidémiologiques relatives aux leptospires. La MST implique des étapes PCR supplémentaires et le séquençage de ces produits PCR, son application est, à ce jour, limitée à l'espèce bactérienne *interrogans*. L'application aux autres espèces bactériennes courantes étant en cours de développement.

La combinaison du séquençage du gène *16S* et VNTR ou MST permet d'obtenir une définition fine du profil génétique et de distinguer des leptospires infectant des populations animales génétiquement proches (Ayrat F. et al., 2015). Son application est pertinente dans le cadre d'études épidémiologiques à l'échelle d'un écosystème.

## B. L'interface leptospires – bovins - animaux sauvages

### 1- Excrétion de leptospires par les hôtes réservoirs

Parmi différentes espèces de mammifères, leur efficacité en tant que réservoir de leptospires dépend notamment de leur capacité à maintenir un portage rénal de leptospires sans être atteint de leptospirose (Machang'u R.S. et al., 2004).

Les espèces de la faune sauvage identifiées comme hôtes naturels de persistance entretiennent la circulation de leptospires dans l'environnement par excrétion active de ces bactéries dans leurs urines (Barbagelata et al., 2013). Les zones peu irriguées, avec un faible courant et des zones ombragées, par exemple des zones de marais, sont un environnement favorable à la persistance des leptospires. Ces zones sont d'autant plus à risque de contamination par les leptospires que la présence d'hôtes réservoirs, notamment de rongeurs, est forte (Blackmore D. K., 1979).

L'infection par les leptospires a été étudiée expérimentalement, principalement sur l'espèce *Rattus norvegicus*. La voie d'excrétion principalement observée est la voie urinaire. L'urine est la principale source de contamination de l'environnement (Adler B. and De la Peña Moctezuma A., 2010). Une corrélation linéaire entre la charge bactérienne des reins et celle des urines a été mise en évidence pour cette espèce (Desvars et al., 2013 ; Costa et al., 2015). La quantité de leptospires émises dans les urines augmenterait en fonction du ratio poids/taille, ceci uniquement pour les individus mâles. Des différences dans l'excrétion rénale de ces espèces hôtes, et donc dans la contamination environnementale, pourraient être à associer aux variations du risque de leptospirose en fonction d'un écotype (Costa F. et al., 2015b). Des leptospires du sérovar Copenhageni étaient majoritairement excrétées dans les urines de *Rattus norvegicus* et de *Rattus rattus* d'après une précédente étude (Levett P.N. et al., 1998). Ce dernier point est lié à la spécificité d'hôte des leptospires et suggère qu'une population hôte donnée favorise la contamination du milieu par une souche donnée de leptospires. Une autre voie d'excrétion actuellement étudiée est la voie pulmonaire suite à la détection de leptospires dans cet organe. Une colonisation pulmonaire par les leptospires a en effet été mise en évidence chez l'espèce *Rattus norvegicus* (Zilber A.L. et al., 2016).

### 2- Maintien des leptospires dans l'environnement

Le comportement des leptospires dans l'environnement dépend des espèces. Les espèces saprophytes sont des organismes aquatiques, vivant à l'état libre et se multipliant dans

des eaux stagnantes. Les espèces pathogènes ne se multiplient pas en dehors de l'hôte, cependant elles peuvent survivre pendant des périodes d'autant plus longues que les conditions de température, pH, humidité, ensoleillement, richesse en nutriments y sont favorables (Bharti A. et al., 2003). Cette période peut être de l'ordre de plusieurs semaines selon les études (Trueba et al., 2004 ; Andre-Fontaine et al., 2015). Il a été mis en évidence que la virulence du sérovar *Icterohaemorrhagiae* était entièrement préservée pendant au moins 20 mois, y compris dans un milieu appauvri en nutriments, à pH<6 et à une température de 4°C (Andre-Fontaine G. et al., 2015).

L'ensemble des leptospires sont capables de synthétiser un biofilm, leur permettant d'adhérer aux cellules et à d'autres surfaces (Gomes Olímpia D. et al., 2018). La synthèse de ce biofilm favorise la transmission via l'environnement, notamment par maintien des leptospires pathogènes dans les eaux de surface (Ristow P. et al., 2008).

En plus de leur multiplicité d'hôtes, les leptospires sont des bactéries capables de survivre en milieu extérieur. Ce délai de survie est cependant favorisé par certains biotopes, humides et chauds (Bharti A. et al., 2003).

### 3- Voies de transmission aux bovins et facteurs de risque en élevage

La transmission de leptospires a lieu par contact avec les muqueuses, ou avec de la peau lésée (Adler, 2010). Chez les bovins adultes, l'infection aux leptospires peut être inapparente, associée à des troubles chroniques de la reproduction : troubles de la fertilité et avortements dans le dernier tiers de gestation. Elle est plus rarement associée à des manifestations aiguës (Ellis, 2015). La forme aiguë se manifeste par une hyperthermie et une chute complète de la production laitière (« drop milk syndrome ») (Adler, 2010). La forme chronique, sous-diagnostiquée, est plus souvent rencontrée et est liée à des souches apparentées au sérotype Sejroe (Ellis W., 2015).

Des leptospires sont identifiées dans les semences (Masri S. A. et al., 1997), dans les sécrétions vaginales jusqu'à huit jours après avortement (Ellis W. et al., 1985) ainsi que dans le sang et les urines jusqu'à 40 semaines après inoculation, sans traitement antibiotique (Leonard F. et al., 1992). Une grande variété de sérogroupes a été rapportée en élevage bovin, parmi lesquels les sérogroupes Australis, Grippotyphosa, Sejroe, *Icterohaemorrhagiae* (Trap et al, 1988 ; Ayrat, 2016 ; Gaszo, 2017 ; Delaborde, 2019). Le schéma d'infection dans un troupeau varie en fonction des souches de leptospires présentes et des conditions d'élevage (Ellis W., 2015).

La transmission indirecte, d'origine exogène, de l'environnement contaminé par des hôtes sauvages réservoirs aux bovins, est majoritaire. L'environnement est à l'interface des animaux d'élevage avec la faune sauvage, et ce par l'intermédiaire de sources d'abreuvement non renouvelées et accessibles aux rongeurs, ainsi que par une période au pâturage étendue (Fávero J. et al., 2017). La nourriture jouerait aussi un rôle en étant contaminée par les urines de rongeurs. L'utilisation d'ensilage plutôt que de concentrés, et le retrait des surplus suivi d'un nettoyage après 48H apparaissent comme des facteurs protecteurs (Delaborde H., 2019; Messaoud K., 2017).

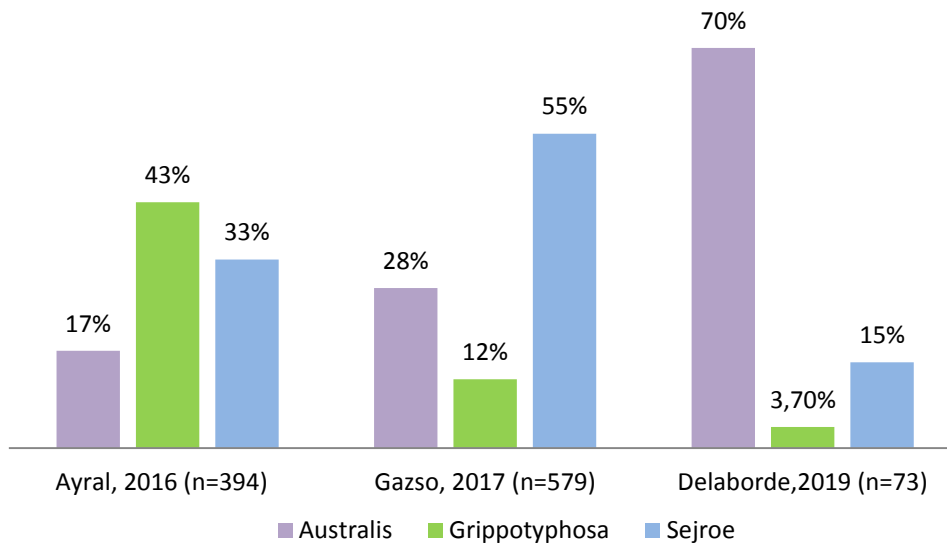
Les voies de transmission indirectes d'origine exogène varient en fonction de l'espèce de la faune sauvage en cause et de son habitat. Il a été suggéré que le maintien à l'étable favoriserait la transmission de leptospires par des rongeurs préférant les bâtiments d'élevage (rats, souris) tandis que la mise au pâturage était en faveur d'une transmission de leptospires par des hôtes vivant à l'extérieur (campagnol, souris, mulot, hérisson) (Trap D., 1988).

#### 4- Souches de *Leptospira* identifiées en élevages bovins

L'espèce bovine est un hôte de persistance du sérovar Hardjo appartenant au séro groupe Serjoe (Ellis W., 2015). Une enquête de séroprévalence menée en 2004 sur 411 cheptels *a priori* sains a montré pour 68 d'entre eux, soit 41% de ces élevages bovins, une réaction sérologique dirigée contre le sérovar Hardjo était présente pour au moins un individu (Andre-Fontaine G. et al., 2010). Lors d'une étude dans l'Ouest de la France, 22 élevages ayant des bovins suspectés d'être infectés furent testés par kits ELISA, avec confirmation MAT. La séroprévalence a été observée à 18%, le séro groupe identifié étant le séro groupe Hardjo (Tresse, 2009).

D'après un rapport de l'Unité de Bactériologie Médicale et Moléculaire des Leptospires, les séro groupes les plus réactionnels parmi des bovins suspects d'être infectés en 2005 en France étaient les séro groupes Icterohaemorrhagiae et Grippytyphosa (Andre-Fontaine G. et al., 2005). Des études rétrospectives sur élevages de bovins suspects d'être infectés ont décrit une distribution spatiale relativement homogène des séro groupes prédominants pour l'espèce bovine en France (Ayrat et al., 2014 ; Messaoud, 2017), avec comme séro groupes majoritairement identifiés Australis et Serjoe.

Dans l'étude de l'interface élevages bovins – mammifères sauvages, la partie concernant les animaux d'élevage (Delaborde, 2019) a été réalisée simultanément à celle du réservoir faune sauvage. Dans cette partie de l'étude, 48 élevages ont été sélectionnés, au sein desquels 481 bovins ont été prélevés au hasard. 27 élevages étaient séropositifs, selon le MAT, soit une exposition aux leptospires pathogènes de 56 % (IC<sub>95%</sub> [41 % ; 70 %]) des troupeaux. Les séro groupes incriminés ont été Australis pour 19 élevages soit 70% des élevages ayant au moins un bovin séropositif, et Serjoe pour 4 élevages soit 15% des élevages ayant au moins un bovin séropositif. Le sérovar Grippytyphosa a été identifié dans un élevage de cette étude. Les élevages bovins sont répertoriés cartographiquement en annexe 1. Deux de ces élevages ont fait l'objet des sessions de captures de petits mammifères. Les résultats d'études de la distribution des séro groupes de l'espèce bovine en France (Ayrat F. et al., 2014; Gazso F., 2017) et dans notre zone d'étude (Delaborde, 2019), sont regroupés dans la figure 2 sur la page suivante.



**Figure 2.** Sérogroupes identifiés en élevages bovins en France. Sources :Ayral, 2016 ; Gazso, 2017 ; Delaborde, 2019.

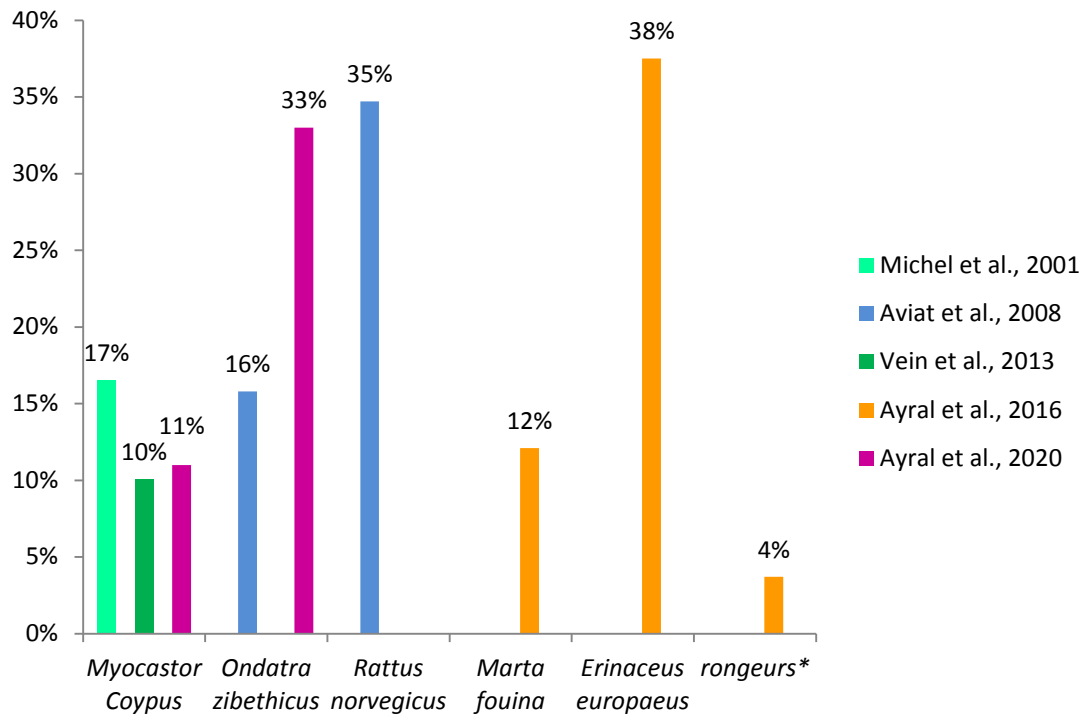
On notera que si le rôle du bovin comme hôte de persistance du séro groupe Sejroe est bien décrit dans un contexte d'élevage (Ellis W., 2015), les bovins sont exposés à une plus grande diversité de souches de leptospires pathogènes que ce seul sérovar (Ayral, 2016 ; Messaoud, 2017 ; Delaborde, 2019). La seule vaccination bénéficiant d'une ATU en France est Spirovac Lepto ®, ne ciblant que le sérovar Hardjo. Devant la diversité de leptospires identifiées en élevages bovins, et les moyens de diagnostic et de traitement limités, il apparaît nécessaire de comprendre l'origine de ces souches, afin d'en prévenir l'exposition.

## C. Le réservoir faune sauvage

### 1- Description du portage rénal par la faune sauvage en France

L'importance du portage rénal de leptospires serait variable au sein de populations animales d'espèces différentes. Parmi les différentes espèces de la faune sauvage, les prévalences préalablement observées sont plus importantes pour le rat musqué (*Ondatra zibethicus*) (Ayral et al., 2020), pour le rat surmulot (*Rattus norvegicus*) (Aviat F. et al., 2009) et pour le hérisson (*Erinaceus europaeus*) (Ayral F. et al., 2016).

Le portage rénal de différentes espèces de la faune sauvage a été étudié dans différentes régions et à différentes périodes en France. Certains résultats de ces études sont synthétisés figure 3 sur la page suivante. Ces résultats sont cohérents avec l'hypothèse d'une variabilité interspécifique du portage de leptospires.



**Figure 3.** Taux de portage rénal par espèces de la faune sauvage en France (\*: *Castor fiber*, *Glis glis*, *Marmota Spermophilus*). Sources : Michel et al, 2001 ; Aviat et al, 2008 ; Vein et al, 2013 ; Ayrat et al, 2016 ; Ayrat et al, 2020.

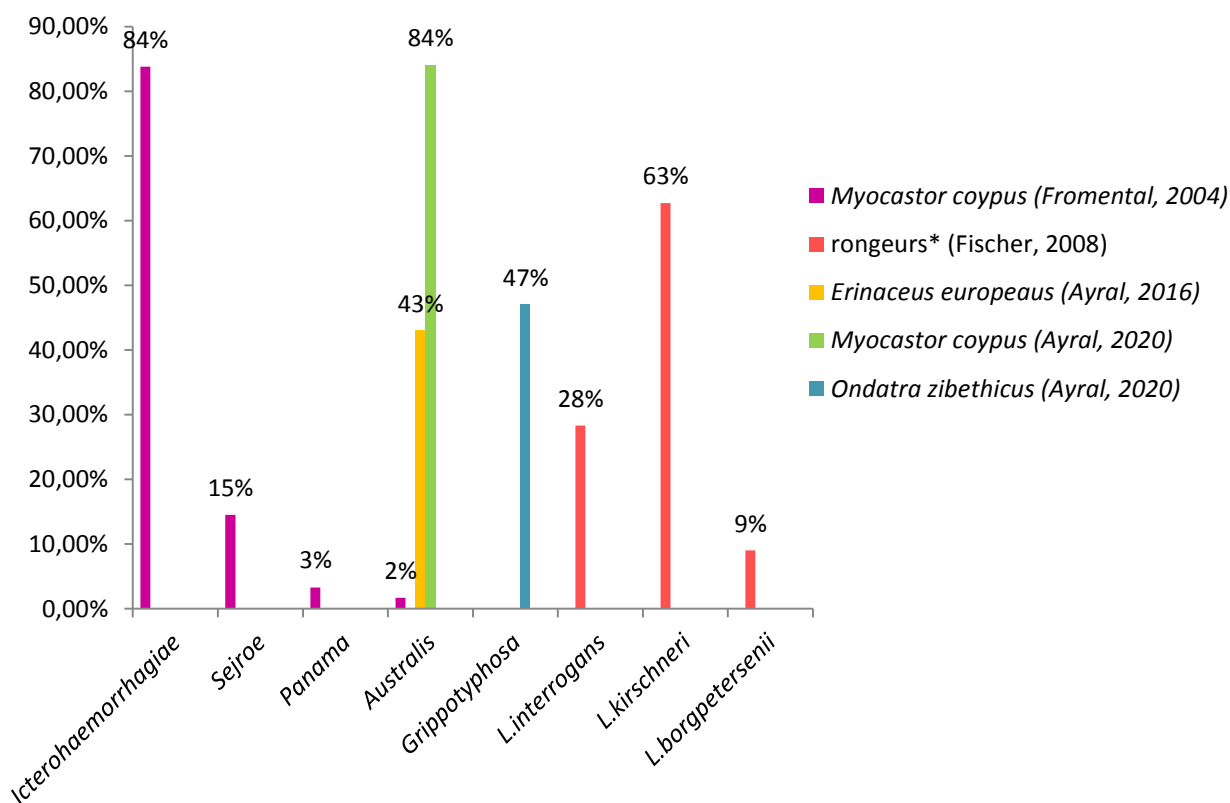
Une étude réalisée en Malaisie parmi trois micro-habitats de types forêt, semi-urbain et urbain a décrit la prévalence du portage de leptospires parmi des petits mammifères de la faune sauvage. Le milieu forêt était associé à une prévalence de 19.4% (n=93), suivie de celle en milieu urbain, 16.6% (n=163) et de celle en milieu semi-urbain, 9.8% (n=113). Le milieu forêt présentait une plus grande biodiversité, tandis que le milieu urbain, notamment du fait de la présence de déchets, était caractérisé par une plus grande densité de rongeurs (Yusof M.A. et al., 2019).

D'après une étude réalisée en France, les environnements de type rivière et eaux closes, et à proximité d'élevage, seraient en faveur d'une forte séroprévalence pour les espèces *Myocastor coypus* et *Ondatra zibethicus*. Cette prévalence varierait en fonction des saisons : baisse en été et augmentation l'hiver (Darras C., 2004).

A l'échelle de l'individu, le poids serait un facteur en faveur de l'infection chez les petits mammifères *Microtis arvalis* et *Microtis agresti* (Fischer S. et al., 2018). Il a été émis l'hypothèse que les animaux plus lourds étaient les individus les plus âgés, et qu'ils étaient exposés depuis un temps plus long que de jeunes individus. Aucune étude n'a observé d'association entre le sexe et le statut infectieux sur les genres *Microtus*, *Apodemus*, *Clethrionomys*, *Crocidura* et *Sorex* (Mayer-Scholl A. et al., 2014).

## 2- Souches identifiées par espèces de la faune sauvage

La mise en évidence de liens entre espèce source et espèce cible est limitée sur le terrain où de nombreux paramètres ne sont pas contrôlés. Cependant la caractérisation du portage selon l'espèce animale hôte, par exemple, une prévalence forte d'infection rénale et la prédominance d'un profil génétique, peut être en faveur d'un éventuel rôle d'hôte de persistance ou de réservoir. Selon ces critères, certaines espèces sauvages ont été associées à une probabilité plus forte d'être hôte de persistance ou réservoir de leptospires pathogènes. En région tempérée, les hérissons seraient principalement des excréteurs du séro groupe Australis (Ayrat F. et al., 2016), tout comme les ragondins, tandis que les rats musqués seraient davantage excréteurs du séro groupe Grippytyphosa (Ayrat F. et al., 2020). Lors d'une étude menée à l'ouest de la France, les sérogroupes prédominants chez le ragondin (*Myocastor coypus*) ont été Icterohaemorrhagiae, Sejroe, Australis et Grippytyphosa (Michel V. et al., 2001). La prédominance du séro groupe Icterohaemorrhagiae a été retrouvée lors d'une étude sur ragondins en Nord Isère (Fromental P., 2004). Différentes espèces de la faune sauvage ont été caractérisées, la figure 4 ci-dessous présente une vue synthétique des souches majoritairement identifiées par espèces.



**Figure 4.** Souches identifiées dans la faune sauvage (\*: *Microtus Arvalis*, *Microtus agrestis*, *Myodes glareolus*, *Apodemus flavicollis*, *Sorex araneus*). Sources : Fromental, 2004 ; Fischer, 2008 ; Ayrat, 2016 ; Ayrat, 2020.

Dans une étude comparée des séroprévalences de rongeurs semi-aquatiques et de bovins sur 26 départements français, les sérogroupes prédominants identifiés dans la faune sauvage étaient significativement différents selon la présence ou absence d'un élevage proche des sites de capture. Les ragondins et rats musqués capturés à proximité d'élevages étaient séropositifs et de sérogroupes prédominants respectifs Sejroe et Grippytyphosa. Le séro groupe prédominant identifié en élevages bovins était Grippytyphosa (Darras, 2004).

Une étude a décrit en Allemagne le portage rénal de leptospires par les petits mammifères (n=2973). Les genres *Apodemus spp.*, *Microtus spp.* et *Crocidura* correspondaient à des prévalences respectives de 11% (n=2272), 13% (n=1394) et de 20% (n=30) avec une prédominance de l'espèce *L.kirschneri*, suivi de de *L. interrogans* et *L. borgpetersenii* (Mayer-Scholl A. et al., 2014).

L'hypothèse d'une association entre l'espèce *L. borgpetersenii* et le genre *Apodemus* a été émise lors d'une étude des leptospires pathogènes isolées dans des populations de petits mammifères en différents types d'habitat (forêt, parc, site renaturalisé) (Obiegala, 2016). La prévalence observée la plus élevée entre sites fut celle de l'habitat forêt, pour une valeur de 11.6% (n=216 captures à ce site). L'espèce *L. kirschneri* a été majoritairement identifiée (Obiegala A. et al., 2016).

L'hypothèse que les espèces *Microtus arvalis* et *Microtus agrestis* pourraient être des hôtes réservoirs de *L. kirschnerii* a été suggérée par une étude récente (Fischer S. et al., 2018). Une infection exclusive à *L. kirschneri* a été observée pour ces espèces, ce à une prévalence observée de 30%, tandis que *L.interrogans*, *L.kirschneri* et *L. borgpetersenii* étaient retrouvées chez les espèces *Apodemus flavicollis* et *Myodes glareolus*.

### 3- Ecologie des espèces en contact avec les élevages bovins

#### a - Identification des espèces en contact avec les élevages bovins

Les espèces de petits mammifères recensées dans les quadrats de capture, d'après l'atlas des mammifères paru en 2019 (<https://atlasmam.fauneauvergnerhonealpes.org/>), sont :

- le campagnol agreste (*Microtus agrestis*)
- le campagnol des champs (*Microtus arvalis*)
- le campagnol souterrain (*Microtus subterraneus*)
- le campagnol roussâtre (*Clethrionomys glareolus*)
- le campagnol terrestre (forme fouisseuse) (*Arvicola scherman*)
- le campagnol amphibie (*Arvicola sapidus*)
- le mulot à collier (*Apodemus flavicollis*)
- le mulot sylvestre (*Apodemus sylvaticus*)
- le rat surmulot (*Rattus norvegicus*)
- la souris grise (*Mus musculus domesticus*)
- la crocidure commune (*Crocidura rossola*)

Des critères macroscopiques permettent la distinction entre les genres *Apodemus*, *Crocidura*, *Microtis* et *Clethrionomys*. Ces critères sont notamment la longueur du corps, la longueur de la queue et des critères plus spécifiques (taille des oreilles et des globes oculaires, couleur du pelage). Le poids permet d'estimer l'âge de l'individu (Sauer J. R. and Slade N. A., 1987). Les informations poids et période de natalité sont des variables indicatrices de la dynamique d'une population pour une période donnée. Le tableau II sur la page suivante rassemble ces informations et les critères de reconnaissance macroscopique par genres.



**Tableau II.** Caractéristiques et critères de reconnaissance des petits mammifères de l'étude.

Source : Quéré et Le Louarn, 2011.

Genre	Nom commun	Critères de reconnaissance phénotypique	Longueur (tête et thorax)	Longueur de la queue	Poids à la naissance	Poids adulte	Période de natalité
<i>Crocidura</i>	Crocidure	Museau pointu, oreilles ramassées, pelage uniforme, queue unicolore	0,4 à 0,6 cm	30 à 46mm	0,25g	8,5 à 13g	Avril à août
<i>Apodemus</i>	Mulot sylvestre	Grandes oreilles, queue plus longue que le corps	9,5 à 11 cm	6.9 à 11.5cm	1 à 2g	15 à 30g	Mars à octobre
<i>Microtus</i>	Campagnol des champs	Queue plus courte que le corps, petits yeux et petits oreilles dépilées	9 à 12 cm	3 à 4.5 cm	2g	35 à 45g	Février à décembre
<i>Clethrionomys</i>	Campagnol roussâtre	Idem que celui des champs, pelage du dos roux	9 à 12 cm	3 à 4,5 cm	2g	35 à 45g	Février à décembre

### **b - Comportement et niche écologique de ces espèces**

La niche écologique et le comportement entre congénères d'une même espèce, ainsi qu'avec les congénères d'autres espèces, sont des facteurs à prendre en compte dans les dynamiques de transmission de leptospires au sein du compartiment faune sauvage. Les paramètres populationnels (espèce sociale, grégaire ou territoriale, étendue du domaine vital, durée de vie moyenne, caractéristiques de reproduction) régissent le taux de contacts entre individus et indirectement entre les individus infectés et non infectés et pourraient avoir un effet sur la prévalence de l'infection aux leptospires dans une population de petits mammifères sauvages. Une vue d'ensemble de ces caractéristiques par espèce est présentée en annexe 2 (Quéré, Le Louarn 2011).

### **Conclusion et transition**

La synthèse bibliographique a permis de souligner la diversité des leptospires identifiées en élevage et dans la faune sauvage. L'état des connaissances sur l'écologie des infections selon l'espèce animale. Les objectifs de la partie expérimentale vont être de décrire l'écologie et les caractéristiques des populations de mammifères sauvages infectées issues de zones d'élevage bovin dans l'ouest lyonnais. Dans un premier temps, la partie descriptive conviendra à résumer les données observées selon les caractéristiques de l'échantillon. En particulier, les distributions saisonnière et spatiale des petits mammifères infectés donneront des indications sur les liens entre les populations hôtes identifiées dans la faune sauvage et l'environnement. Dans un second temps, des analyses statistiques de ces observations permettront d'estimer les variations de proportions d'individus infectés à partir des caractéristiques des populations hôtes et des paramètres environnementaux.

## II. Matériel et méthode

### A. Etudes de terrain

#### 1- Ethique

Le protocole d'étude a été soumis au comité d'éthique de VetAgro Sup Lyon qui a émis un avis favorable (Avis n° 1813 – V2 datant du 18 septembre 2018). Tous les échantillons ont été prélevés sur des rongeurs dans le cadre réglementaire de la maîtrise des populations susceptibles d'occasionner des dégâts ou dans le cadre de l'étude selon le protocole pré établi et validé. Toutes les procédures sont en accord avec les normes éthiques des réglementations nationales et européennes applicables en matière de soins et d'utilisation des animaux (Arrêté 2007/04/06 et Directive 2010/63/CE).

#### 2- Sites d'échantillonnage et collecte d'échantillons

Les deux sites de captures A et B correspondent à deux élevages dont au moins un bovin a été détecté séropositif par MAT parmi l'échantillon du troupeau. Deux bovins par site ont réagi au test de microagglutination sur souches, aux sérogroupes Australis (sites A et B) et Sejroe (site A).

Les petits mammifères ont été piégés dans ces deux élevages localisés à Sourcieux-les-Mines, le site A, et Lentilly, le site B, de mai 2018 à mars 2020 sur deux cycles saisonniers consécutifs, sur huit sessions de capture de dix à douze jours.

La région Rhône-Alpes, ici en zone périurbaine, au Nord-Ouest de Lyon, est caractérisée par un climat tempéré, semi-continentale. L'exploitation A est caractérisée par des terrains légèrement en pente, davantage de lisière de forêts et un cours d'eau (non répertorié cartographiquement), au contact de plus de la moitié de nos sites de piégeages. L'exploitation B est plus proche d'habitations urbaines et moins arborée. Ces observations ont été objectivées cartographiquement, et les exemples des pâtures du site A et du site B utilisées lors de la quatrième session de piégeage figurent en annexes 3 et 4. L'exploitation du site A regroupe 95 vaches laitières, 50 vaches en allaitant, ainsi que 50 chevaux d'élevage ou en pension. La saison de pâturage pour cet élevage s'étend de mi-mars à fin novembre. Le cheptel du site B est constitué uniquement de 50 vaches en allaitant depuis le 10 mai 2019, date à laquelle l'éleveur a vendu ses 28 vaches laitières. Les vaches sont dehors toute l'année tant que les conditions le permettent. Aucun des deux éleveurs ne rapporte ni de baisse de la fertilité ni de chute de production, malgré l'exposition aux leptospires mise en évidence au sein de leur cheptel.

#### 3- Captures et prélèvements

##### a - Cas des petits mammifères

Des pièges Ugglan® ont été utilisés pour les captures de petits mammifères : ces pièges sont constitués d'une palette à contre-poids laissant tomber l'animal lorsqu'il s'y introduit. Ces pièges ne sont pas spécifiques ce qui permet de rendre compte de la diversité d'espèces de petits mammifères présente. Cependant, des individus de l'espèce *Crocidura russula*, protégée en France, peuvent être accidentellement capturés du fait de l'absence de

spécificité de ces pièges. Dans ce cas, les espèces non ciblées vivantes étaient relâchées. Dans le cas contraire, l'animal était inclus dans l'échantillonnage. Quatre sessions par an ont été planifiées dans chacun des sites afin d'éventuellement pouvoir étudier l'effet saison. Les pièges Ugglan® enrichis avec des graines, des végétaux et du coton ont été placés, dans les pâtures mises à disposition par l'éleveur. Après une observation préalable de la pâture et l'éventuelle détection de traces de présence de petits mammifères (entrées de galerie, coulée, déjection, tumulus), les pièges étaient positionnés selon deux transects de 20 pièges le long des haies et des coulées, et distancés de minimum 2 mètres les uns par rapport aux autres. Selon notre expérience, un effectif de 40 pièges par site et en place pendant 10 jours pouvait permettre la capture d'environ 20 individus par site et par session en cas de forte présence.

Afin de réduire les effets de la néophobie des animaux sur le succès de capture, les pièges ont été placés non amorcés en amont de la session. Les pièges Ugglan® étaient placés trois à quatre jours avant la session alors que des ratières, présentes en continue sur les sites étaient appâtées trois semaines avant la session, les rats étant plus néophobes que les autres petits mammifères. La disposition des pièges était systématiquement cartographiée, afin de faciliter les relevés. Tous les pièges étaient amorcés la veille du premier jour de la session de capture puis relevés matin et soir chaque jour pendant huit à dix jours à l'exception de la dernière session arrêtée prématurément en absence de capture.

Immédiatement après la capture, les animaux étaient acheminés au laboratoire où ils étaient euthanasiés par ponction cardiaque après administration d'Isoflurane ® et observation de l'inconscience (absence de mouvement à la stimulation). Le poids et la taille étaient systématiquement mesurés. Le sexe et le stade de maturité sexuelle d'un individu étaient établis au moment de l'autopsie à partir de l'observation des organes sexuels. Un individu avec la présence de glandes séminales ou d'un utérus développé était enregistré comme sexuellement mature et classé dans la catégorie « Mature ». A l'inverse, l'absence de ces observations impliquait l'enregistrement de l'individu dans la catégorie « Immature ». Les échantillons d'organes et de fluides biologiques incluaient les deux reins, deux à trois fragments de poumon issus de lobes différents, un fragment de queue d'un centimètre, le sang et l'urine, l'ensemble collectés à l'aide d'un équipement stérilisé.

#### **b - Cas des fouines et ragondins**

Un plan d'échantillonnage de rongeurs semi-aquatiques et de fouines a été mis en œuvre en partenariat avec les Associations de Piégeurs Agréés dans les communes de Bully, Lentilly et Sourcieux les Mines et coordonné par la Fédération Départementale des Chasseurs du Rhône. Des fiches d'accompagnement permettaient d'avoir des informations sur l'espèce identifiée, la date de collecte du piège, la date de congélation de l'animal et la localisation GPS de la capture, ou à défaut la commune de capture. Des congélateurs ont été mis à disposition des associations pour conserver les cadavres. A la demande des associations, une personne habilitée pour le déplacement de cadavres de la faune sauvage se chargeait de l'acheminement au Laboratoire de VetAgro Sup Lyon pour procéder aux prélèvements des reins, des poumons et de l'urine. Les échantillons étaient conservés à -20°C en attente d'analyses complémentaires.

#### **4- Définition d'un individu infecté**

La définition de l'individu infecté a été : tout individu échantillonné pour lequel une à plusieurs matrice(s) rein, urine et/ou poumon était testée(s) positive(s) par la méthode de détection directe PCR point final.

## 5- Analyses moléculaires

Selon les instructions du fabricant, nous avons extrait l'ADN d'environ 25mg de tissu, prélevés à la jonction cortico-médullaire sur les reins et aléatoirement sur différents lobes sur les poumons (2 à 3 échantillons de 2 à 5 mg). Ces échantillons ont ensuite été lavés au PBS puis homogénéisés aseptiquement à l'aide d'une seringue. Ils étaient incubés avec 180 µL d'ATL Tampon et 25 µL de protéinase K (QIAamp, Qiagen, Courtaboeuf, France) pendant 3 heures. Après digestion des protéines, l'ADN était extrait de 200 µL de tissu lysé en utilisant un tissu Nucleospin Kit 106 (QIAamp, Qiagen, Courtaboeuf, France) selon les instructions du fabricant. Tous les échantillons d'ADN ont été stockés à -20 ° C.

Ces extraits ont été ensuite analysés par PCR point final, en condition pur et en dilution au 1/10<sup>ème</sup> (1 µL d'échantillon et 9 µL d'eau stérile). La combinaison de ces deux conditions permettait la détection de l'ADN de leptospires en pur si sa concentration était faible, ainsi que l'expression de l'ADN de leptospires par dilution en cas de présence d'inhibiteurs.

Le mix de PCR MIX Maxima Hot Sart Green était préparé dans une salle dédiée, pour éviter toute contamination ADN. Des amorces Lept A et Lept B diluées au 1/10<sup>ème</sup> ont été utilisées.

Quatre témoins étaient requis pour attester de la validité des résultats :

- un témoin négatif d'extraction par type de matrice à analyser, le NCS (« Negative Control Sample »), permettant de vérifier l'absence de contaminant lors de la phase d'extraction.
- un témoin positif d'extraction par lot analysé : PCS (« Positive Control Sample »), permettant de vérifier l'absence d'inhibiteur dans l'échantillon extrait.
- un témoin positif de PCR : BRAT, correspondant à de l'ADN de souche de leptospire de séro groupe Bratislava déjà extrait.
- un témoin négatif de PCR :NTC (« No Template Control »).

Les amplifications ont été réalisées dans un thermocycleur au cours du cycle suivant: (1) dénaturation initiale à 95°C pendant 4 minutes puis (2) à 95°C pendant 30 secondes, (3) hybridation des amorces à 57°C pendant 30 secondes, (4) élongation à 72°C pendant 1 minute, (5) 35 répétitions des étapes (2) à (4), (6) maintien des amplifiats à 4°C, à l'infini.

6 µL de chaque amplifiat était déposé dans le puit correspondant, selon un plan de plaque, au sein de gels d'agarose à 1.5% dans cuves d'électrophorèse Advance Mupid-One (LEP-MOY-M24) avant d'être mis à migrer 30 minutes à 135 Volts, dans du tampon TAE 1X. Le dépôt de 6 µL de marqueur de poids moléculaire dans un puit du gel facilitait ensuite la lecture du gel sous lampe UV. Les résultats ont été conservés sous forme de photographies.

En cas de test PCR positif, une caractérisation moléculaire de l'espèce et du sérovar de *Leptospira* avait lieu. Un séquençage Sanger (Laboratoire Genoscreen, Lille) de la séquence nucléotidique du fragment obtenu PCR conventionnelle sur le locus 16S de l'ADN ribosomal (Mérien F. et al., 1992) permettait d'identifier l'espèce de *Leptospira*.

L'analyse VNTR était réalisée sur chaque extrait d'ADN d'échantillon positif en utilisant l'amplification des loci VNTR 4, VNTR7, VNTR10. Les séquences ainsi obtenues étaient identifiées selon la base de données publiée par l'Institut Pasteur (Salaun L. et al., 2006) ainsi que les données du Laboratoires des Leptospires.

Afin d'identifier précisément les espèces de petits mammifères, les échantillons de queues prélevés sur chaque individu capturé ont été conservés dans l'éthanol et envoyés au laboratoire de biologie moléculaire de l'unité mixte de recherche EPIA (INRAE VetAgro Sup) pour séquençage et détermination génétique de l'espèce. Ces résultats n'étant pas disponibles au moment de la rédaction du manuscrit, nous désignerons par la suite les espèces de petits mammifères capturées par les noms « campagnols », « crocidures » et « mulots ».

## B. Etude descriptive

### 1- Description de l'échantillonnage

#### a - Paramètres descriptifs de l'échantillonnage

La description des données a été réalisée selon les informations relatives aux petits mammifères capturés (espèce, sexe, stade de maturité) et selon les informations relatives aux captures en elles-mêmes (numéro de session, site, saison). Les données concernant les populations de fouines et ragondins ont été décrites par espèce, sexe, stade de maturité, date et commune de piégeage.

#### b - Prévalences apparentes

Les prévalences apparentes ont été calculées pour chaque espèce animale et chaque groupe d'animaux en fonction des paramètres définis ci-dessus. Les intervalles de confiance de ces prévalences d'individus infectés ont été calculés à l'aide de la méthode de Wilson, méthode recommandée pour de petites tailles d'échantillons (Tobi, 2005).

### 2- Cartographie des sites de piégeage

La distribution spatiale du statut infectieux des individus échantillonnés dans les zones d'étude a été visualisée dans QGIS version 3.10.3 (ESRI, Redland, CA, États-Unis). Concernant les petits mammifères, au site A, deux pâtures ont été utilisées à plusieurs reprises, l'une commune aux première et quatrième sessions, et la seconde commune aux sixième et huitième sessions. Les fouines et ragondins ont été capturés sur trois communes : Lentilly, Bully et Sourcieux-les-Mines (annexe 5). Nous rappelons ici que le site A de captures de petits mammifères est sur la commune de Sourcieux-les-Mines, le site B sur la commune de Lentilly.

Autour des pâtures utilisées pour chaque session de captures de petits mammifères sur chaque site, une zone tampon fixe de 100 mètres a été créée. L'outil « Intersection » et la fonction mathématique « \$area » ont été utilisés pour découper ces zones avec la couche vecteur de CLC (France métropolitaine, 2018) et obtenir la surface en mètres carrés de chaque type d'utilisation des sols à l'intérieur de ces zones. Ces variables ont été reportées dans une table de données sous forme de pourcentages (annexe 6) et catégorisés en fonction de la typologie prédominante (annexe 7).

Il a été procédé de même avec les captures de ragondins et fouines, lorsque les données de géolocalisation étaient renseignées c'est-à-dire pour 23 individus sur 37 animaux testés (annexes 8 et 9).

## C. Etude analytique

### 1- Modèles de régression logistique

#### a - Définition des variables : variable réponse et variables explicatives

La variable réponse, à expliquer par modélisation, est le statut d'infection par *Leptospira*. Elle est définie par une proportion c'est-à-dire le rapport entre nombre d'individus infectés et le nombre d'individus total capturés.

Sur l'échantillonnage de petits mammifères, nous avons choisi de modéliser nos proportions d'individus infectés en fonction de cinq facteurs explicatifs : Site, Saison, Espèce, Sexe, Stade de maturité. Les facteurs prennent respectivement les niveaux suivants : [Site A, Site B], [Printemps, Eté, Automne], [Campagnols, Mulots, Crocidures], [Mâle, Femelle], [Immature, Mature].

#### b - Régressions logistiques de Firth

Le choix de la régression logistique de Firth, i.e. avec réduction de biais, est justifié du fait de petits échantillons sur des modalités à cinq variables.

Le nombre de prédicteurs, c'est-à-dire le nombre de variables explicatives et d'interactions en entrée, peut s'avérer élevé pour certains modèles testés. La quantité de données n'est alors pas suffisante pour observer certaines modalités décrites par le modèle. Dans ce cas, le maximum de vraisemblance ne converge pas et les estimations correspondant à ces modalités sont aberrantes.

L'emploi de la régression logistique de Firth (Firth D., 1993) a permis de résoudre ce problème et d'obtenir une solution stable (estimations non aberrantes). Des intervalles de confiance ont pu être déterminés autour de l'ensemble des estimations. La fonction de régression logistique de Firth « `brglm` » a été utilisée, à partir du package homonyme dans le logiciel R version 3.6.3 (annexe 10).

### 2- Sélection de modèle sur AICc

#### a - Hypothèses de départ

Un premier travail de sélection des modèles les plus pertinents à partir de ces cinq variables explicatives a été réalisé, sur la base d'hypothèses biologiques.

La leptospirose étant une maladie saisonnière, l'impact des saisons a été considéré comme une variable d'intérêt. L'influence du sexe a été relevée à de nombreuses reprises chez l'homme (Bourhy, 2017) et chez l'espèce *Rattus rattus* (Desvars A. et al., 2013), mais elle n'a pas été mise en évidence chez les petits rongeurs. Le choix de tester l'hypothèse « plus de mâles infectés que de femelles » a motivé l'ajout de la variable Sexe au modèle.

Les espèces sont différentes les unes des autres en termes de biologie, d'habitat, et de comportement. D'après une étude sur le portage rénal des petits mammifères en Allemagne, les prévalences observées respectives des genres *Apodemus spp.*, *Microtus spp.* et *Crocidura* étaient respectivement de 11% (n=2272), 13% (n=1394) et de 20% (n=30) (Mayer-Scholl A. et al., 2014). Cette variable a été retenue dans l'ensemble de modèles établi.

Enfin, les sites n'étant pas très éloignés ni radicalement différents, nous ne nous attendions pas à un impact important de cette variable sur le statut infectieux de nos individus.

### **b - Choix d'un classement sur AICc**

L'échantillon étant de petite taille, le critère d'information d'Akaike (AIC) risquait de sélectionner des modèles avec beaucoup de paramètres. Le critère d'information d'Akaike avec correction de continuité (AICc) a été choisi. L'AICc est un outil de sélection sur un ensemble de modèles. La valeur de ce critère diminue quand la vraisemblance du modèle (« likelihood ») augmente et le nombre de paramètres de ce modèle diminue (annexe 11). La sélection de modèle a reposé sur le principe de parcimonie c'est-à-dire sur le principe d'optimiser la performance du modèle pour un nombre de paramètres minimal. Le modèle à plus faible AICc a été considéré comme le meilleur modèle de l'ensemble. Le delta AICc est la différence d'AICc d'un modèle de l'ensemble avec celui du modèle sélectionné. Plus le delta AICc est élevé, moins le modèle est plausible relativement au modèle sélectionné. Le poids d'Akaike est calculé à partir de ce delta AICc. Il s'agit de la probabilité que chaque modèle soit identifié comme le meilleur modèle par AICc, si l'échantillonnage était répété à plusieurs reprises. Ces deux outils ont permis de comparer les modèles de l'ensemble.

### **c - Evaluation des modèles sur critères graphiques**

L'ajustement d'un modèle aux données a été examiné à l'aide des graphiques suivants : graphique des valeurs attendues par le modèle en fonction des valeurs observées, graphique des résidus standardisés de déviance en fonction des valeurs attendues par le modèle, graphique des résidus standardisés de déviance en fonction de l'ordre d'apparition des valeurs observées, graphique des distances de Cook en fonction de l'effet de levier, courbe ROC du modèle.

La distance de Cook est la mesure de l'effet de suppression d'une donnée. L'effet de levier, appelé « leverage », est la mesure de la distance entre la valeur attendue par le modèle et la valeur observée dans le jeu de données.

La courbe ROC est la représentation graphique du couple (1 – spécificité ; sensibilité). (1- spécificité) correspond à la capacité du modèle à identifier le non-événement c'est-à-dire l'événement « ne pas être infecté », et la sensibilité correspond à la capacité du modèle à identifier l'événement, « être infecté ». L'aire sous la courbe ROC (AUC) varie de 0.5 en cas de modèle aléatoire à 1 en cas de modèle idéal.

## **3- Estimations prédites par un modèle de régression logistique**

La régression logistique de Firth permet d'estimer des coefficients de régression. A partir de la fonction inverse de la fonction de lien logit, il a été possible de calculer des estimations de la probabilité d'être infecté (notée  $p$ ) en fonction de modalités c'est-à-dire de valeurs prises par les variables explicatives du modèle (annexe 12).

Aux estimations issues des régressions logistiques ont été associées des erreurs standards, elles-mêmes calculées à partir de la méthode delta, avec la fonction « deltamethode » du package « msm » dans le logiciel R version 3.6.3 (annexe 10). Ces erreurs standards ont permis de calculer des intervalles de confiance autour des estimations du modèle.

## 4- Inférence multimodèle

### a - Principe de l'inférence multimodèle

L'inférence multimodèle est une méthode d'estimation sur plusieurs modèles. Le poids d'Akaike est la probabilité qu'un modèle soit le meilleur modèle relativement aux autres modèles d'un ensemble de modèles. Lorsque le poids d'Akaike du meilleur modèle est inférieur à 0.9, il est recommandé d'avoir recours à l'inférence multimodèle et d'inclure l'ensemble des modèles testés dans cette méthode (Burnham and Anderson, 2004). Dans cette étude, le choix a été d'inclure tous les modèles à poids d'Akaike supérieur ou égal à 10% du poids d'Akaike du meilleur modèle de l'ensemble de modèles.

### b - Estimations par inférence multimodèle

Les estimations issues de la méthode d'inférence multimodèle sont les sommes des estimations des différents modèles inclus dans l'inférence pondérées par les poids d'Akaike de ces différents modèles. Un exemple de calcul de certaines de ces estimations figure en annexe 10.

### c - Calcul d'incertitude relative à l'inférence multimodèle

La variance inconditionnelle de l'inférence multimodèle est la somme de la variance d'échantillonnage et de la variance due à la sélection de modèles (annexe 13). Il s'agit de la somme des carrés des erreurs standards pondérés par les poids d'Akaike de chaque modèle, additionnée à la somme des écarts entre l'estimation par inférence multimodèle et l'estimation par le  $i^{\text{ème}}$  modèle inclus dans l'inférence.

La variance inconditionnelle nous permet de calculer les variances de chaque estimation et un intervalle de confiance à 95% autour des estimations issues de l'inférence multimodèle.

Un pourcentage d'incertitude liée à la sélection de modèle est calculé pour chaque estimation. Il s'agit du rapport de l'erreur standard de l'estimation par inférence multimodèle sur l'erreur standard de l'estimation par le modèle issu de la sélection sur AICc. Ce pourcentage d'incertitude varie en fonction de l'estimation. La mesure de l'incertitude relative à l'inférence multimodèle est un indice pour évaluer la précision des estimations obtenues par inférence multimodèle.



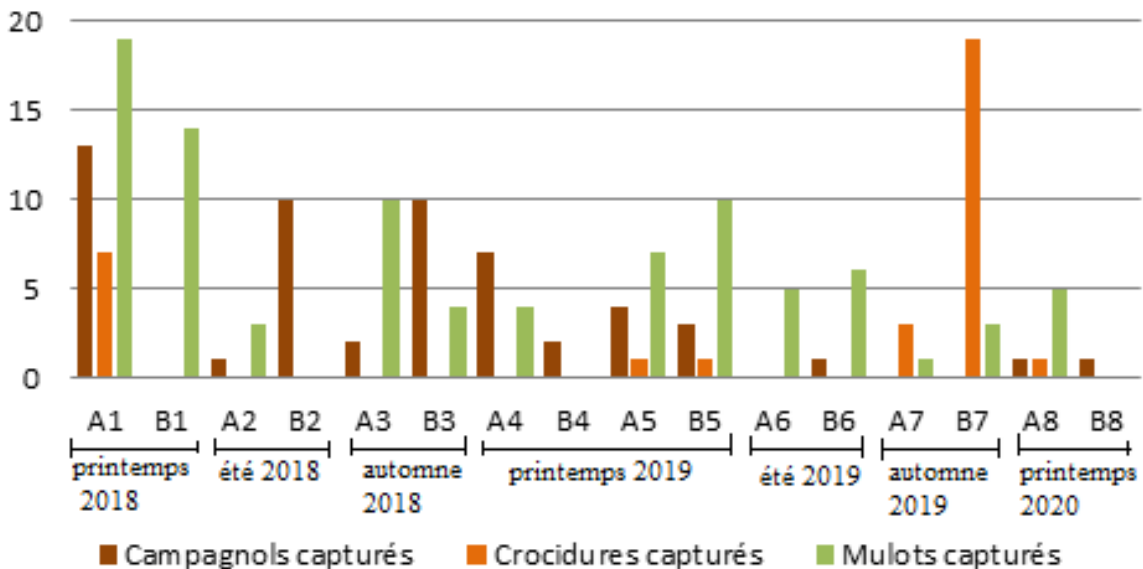
### III. Résultats

#### A. Étude descriptive

##### 1- Description de la population d'échantillonnage

###### a - Échantillonnage de petits mammifères

Huit sessions de captures ont été réalisées sur deux sites A et B d'élevage de mai 2018 à mars 2020. Quatre sessions ont eu lieu par an, aux mois de mars, mai, août et octobre. Les trois espèces ont été capturées dans les mêmes proportions entre les deux sites avec respectivement 49 mulots, 27 campagnols, 11 crocidures au site A et 37 mulots, 25 campagnols et 20 crocidures au site B. La taille d'échantillonnage et sa composition par espèces ont varié au cours des différentes sessions. L'espèce crocidure n'a pas été capturée en été. La figure 5 ci-dessous représente la répartition des espèces capturées au cours des sessions en fonction des sites A et B.



**Figure 5.** Répartition par espèces des petits mammifères capturés sur les pâtures (A = site A, B = site B, 1 à 8: numéros de sessions). Source : réalisée d'après l'auteur.

Les échantillons issus des différentes sessions et sites ont été caractérisés selon le stade de maturité sexuelle, l'espèce et le sexe des petits mammifères capturés. Les prévalences apparentes calculées pour ces différents groupes figurent en annexes 14, 15 et 16.

Le *sex ratio*, rapport du nombre de mâles capturés sur le nombre de femelles capturées, est élevé, variant entre 6.4 l'automne, 4 au printemps et 5.25 l'été. Le *sex ratio* varie selon les saisons, comme le montrent le tableau III et l'annexe 17.

**Tableau III.** Sex ratio des petits mammifères par session de capture. Source : réalisé d'après l'auteur.

Saison	Printemps	Eté	Automne	Printemps	Printemps	Eté	Automne
Session	1	2	3	4	5	6	7
Sex ratio	1	6	2	1,6	1,4	4,5	1,6

Des juvéniles ont été capturés au mois de mars, la session était déjà trop tardive pour l'hiver (absence de reproduction en cette saison en théorie) ou les conditions étaient favorables à une reproduction continue pour les deux années consécutives. Dans une hypothèse comme dans l'autre, nous avons donc décidé de qualifier de printemps la saison de ces sessions réalisées au mois de mars. Nous avons donc capturé des petits mammifères sur deux sessions (sessions 3 et 7) pour la saison « automne », sur deux sessions pour la saison « été » (sessions 2 et 6) et sur quatre sessions pour la saison « printemps » (sessions 1,4,5 et 8).

### b - Échantillonnage de fouines et ragondins

Les prélèvements réalisés grâce aux captures des associations de piégeurs ont eu lieu de novembre 2018 à mars 2020 et ont permis de récolter 46 animaux (30 ragondins, 10 fouines, 5 campagnols, 1 renard) sur trois communes (Sourcieux-les-Mines, Bully, Lentilly). Seuls 37 individus ont pu être testés par PCR. Le tableau IV présente leur répartition par espèces et communes de piégeages.

**Tableau IV.** Répartition des individus capturés par les associations de piégeurs par espèces et communes. Source : réalisé d'après l'auteur.

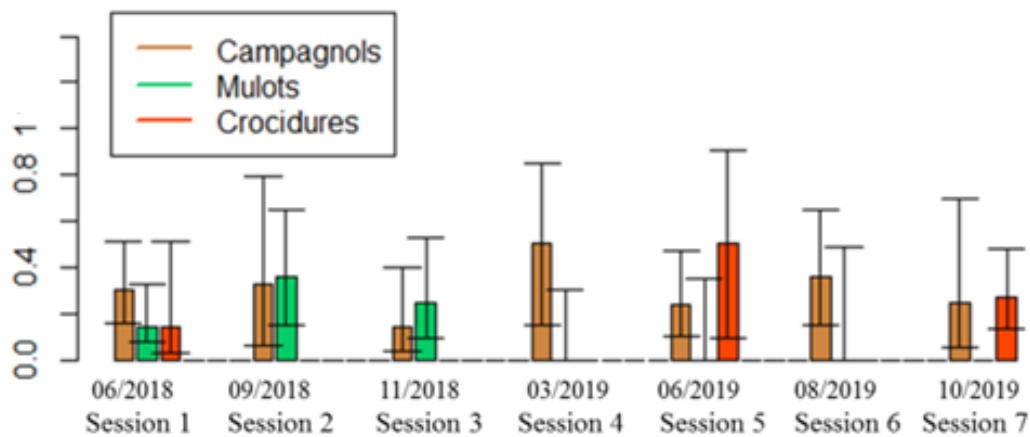
Espèce \ Site	Bully	Sourcieux-les-Mines	Lentilly	Total
Ragondins	8	12	10	30
Fouines	5	1	1	7
Total	13	13	16	37

Le *sex ratio* de cet échantillonnage a été de 0.8 pour les ragondins et de 1.7 pour les fouines. L'échantillonnage était majoritairement constitué d'individus matures (n=28) et de peu d'individus immatures (n=11). Les captures ont été réalisées essentiellement l'hiver (n= 29), avec moins d'individus l'été (n=5) et l'automne (n=3).

## 2- Distribution des individus infectés

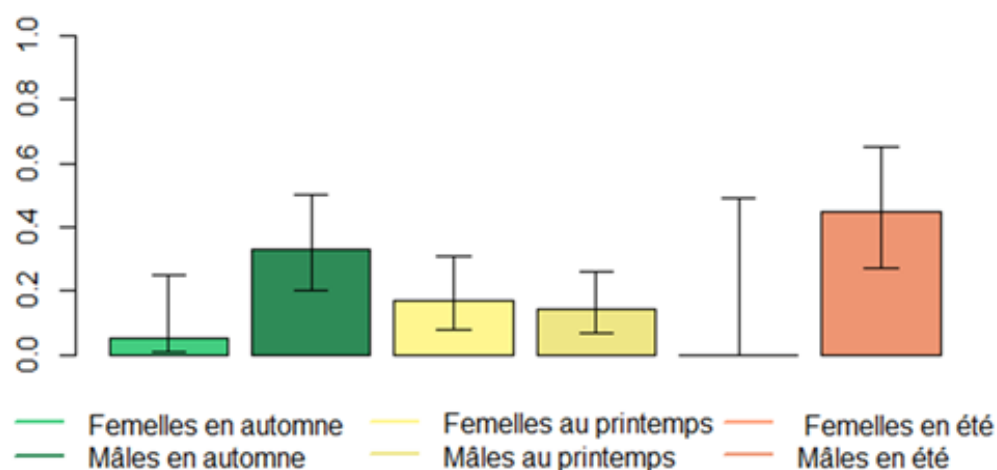
### a - Cas des petits mammifères

La prévalence de petits mammifères infectés au niveau rénal, pulmonaire et /ou urinaire par *Leptospira* a été observée à 0.22 (IC<sub>95%</sub> [0.1 ; 0.29], n=169). Les prévalences apparentes ne varient pas selon l'espèce de petits mammifères comme le montre la figure 6, sur la page suivante.



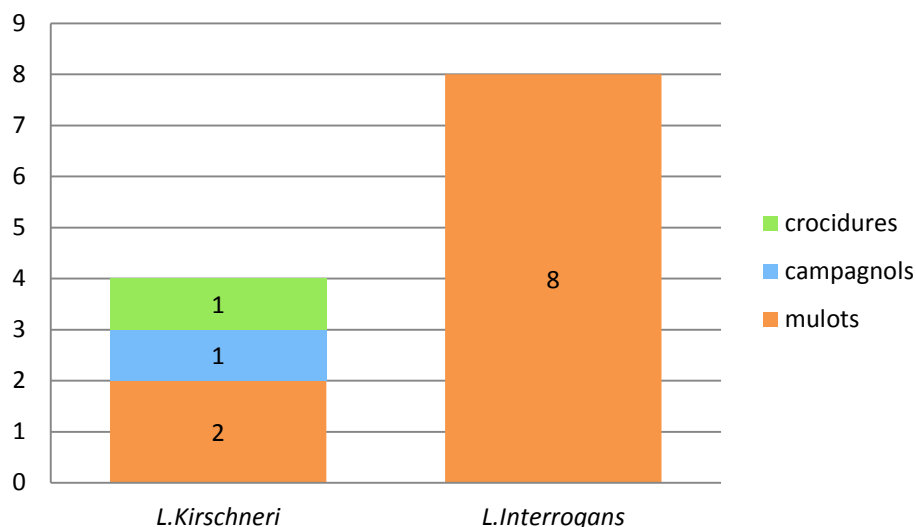
**Figure 6.** Prévalences d'individus infectés par espèces par session. Source : réalisée d'après l'auteur.

Les prévalences apparentes ne diffèrent ni selon le stade de maturité sexuelle (annexe 18) ni selon le sexe (annexe 19). Les prévalences de petits mammifères infectés aux sites A et B ont été respectivement de 0.18 (IC<sub>95%</sub> [0.12 ; 0.28]) et 0.26 (IC<sub>95%</sub> [0.17 ; 0.36]). En été, aux sessions 2 et 5, seulement 4 femelles ont été capturées : aucune n'était infectée. Ces prévalences selon le sexe au cours des saisons sont représentées sur la figure 7 ci-dessous. L'été correspond à la prévalence apparente la plus élevée, elle est de 0.45 (IC<sub>95%</sub> [0.27 ; 0.65]), pour les petits mammifères mâles.



**Figure 7.** Prévalences d'individus infectés par sexe au cours des saisons. Source : réalisée d'après l'auteur.

Les espèces de leptospires identifiées ont été *L.interrogans* (n=8) et *L.kirschneri* (n=4). La distribution des sérovars identifiés par espèces de petits mammifères est représentée en figure 8, sur la page suivante. L'ensemble des petits mammifères infectés par l'espèce *L.interrogans* ont été des mulots. *L.kirschneri* a été identifié chez les trois espèces de petits mammifères. Parmi les individus infectés par *L.interrogans*, six d'entre eux ont présenté un profil apparenté au sérovar Bratislava, séroroupe Australis.



**Figure 8.** Distribution des sérovares identifiés par VNTR, par espèces de petits mammifères.  
Source : réalisée d'après l'auteur.

Six rats et souris capturés aux sites A et B ont été testés : un seul individu était infecté, un rat mâle juvénile capturé au site A en été. L'ADN de leptospires extrait était en trop faible quantité pour être séquencé.

#### b - Cas des fouines et ragondins

La prévalence de fouines et ragondins infectés au niveau rénal, pulmonaire et /ou urinaire par *Leptospira* était de 0.27 (IC<sub>95%</sub> [0.15 ; 0.5], n=37). Sur l'ensemble des individus capturés à Lentilly, aucun n'était infecté, 10 ne sont cependant pas testés au moment de la rédaction de ce manuscrit. Les prévalences apparentes par espèce, sexe et stade de maturité sexuelle sont présentées dans le tableau V ci-dessous.

**Tableau V.** Prévalence de l'infection par espèce, sexe et stade de maturité. Source : réalisé d'après l'auteur.

Espèce	Sexe		Stade de maturité sexuelle		Totaux
	Femelles	Mâles	Immatures	Matures	
Fouines	1 (IC <sub>95%</sub> [0.44 ; 1], n=2)	0.4 (IC <sub>95%</sub> [0.12 ; 0.77], n=5)	1 (IC <sub>95%</sub> [0.2 ; 1], n=1)	0.6 (IC <sub>95%</sub> [0.25 ; 0.84], n=6)	0.27 (IC <sub>95%</sub> [0.11;0.61], n=7)
Ragondins	0.17 (IC <sub>95%</sub> [0.06 ; 0.39], n=17)	0.14 (IC <sub>95%</sub> [0.04 ;0.40], n=13)	0.1 (IC <sub>95%</sub> [0.02 ; 0.4], n=10)	0.2 (IC <sub>95%</sub> [0.07; 0.39], n=20)	0.23 (IC <sub>95%</sub> [0.12;0.42], n=30)
Fouines et ragondins	0.20 (IC <sub>95%</sub> [0.09 ; 0.39], n=12)	0.24 (IC <sub>95%</sub> [0.11 ;0.45], n=25)	0.13 (IC <sub>95%</sub> [0.02;0.47], n=13)	0.24 (IC <sub>95%</sub> [0.13 ;0.40], n=13)	0.27 (IC <sub>95%</sub> [0.15;0.5], n=37)

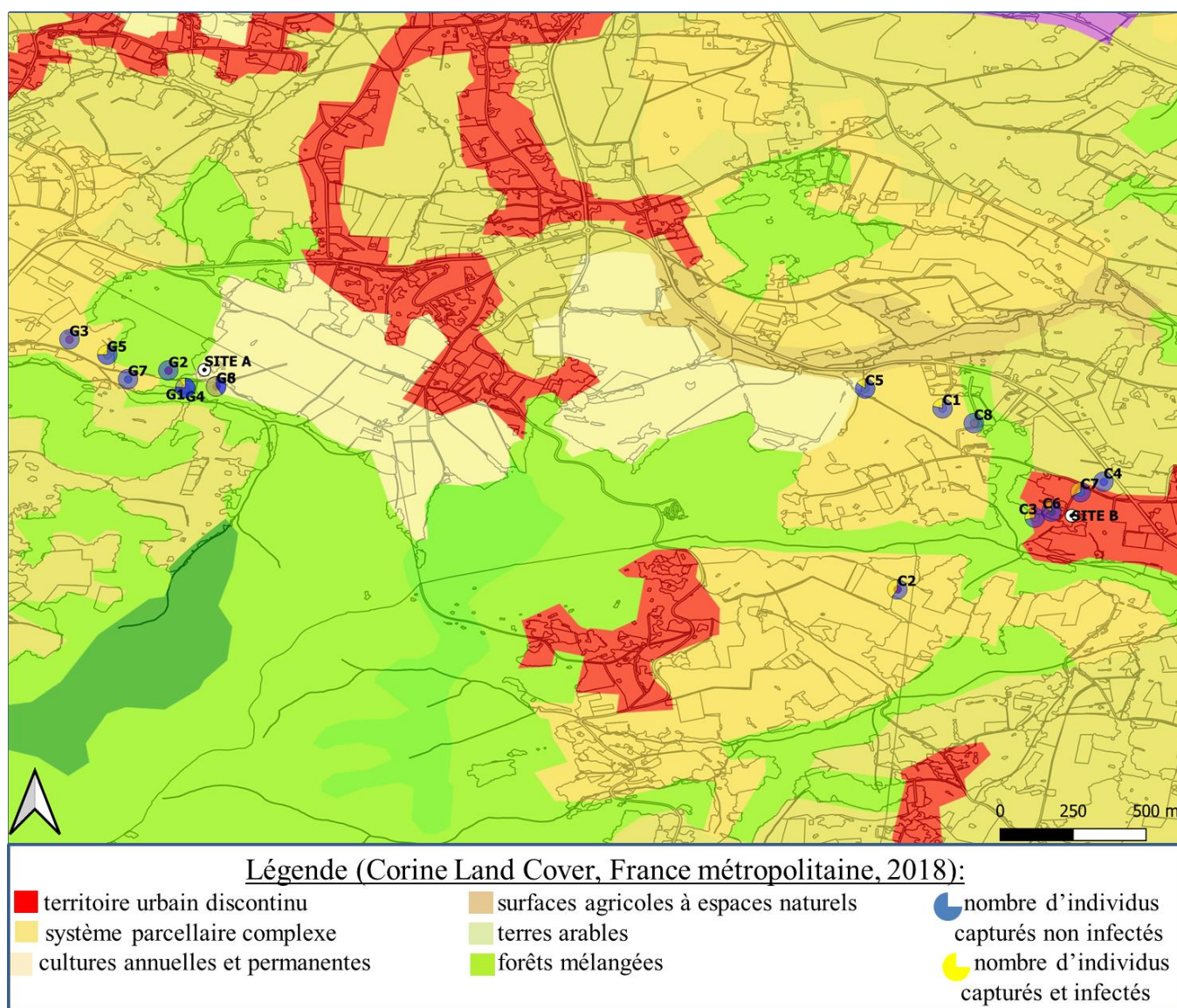
### 3- Distribution spatiale des piégeages

Les typologies des sites A et B sont relativement différentes, avec une prédominance de pâtures de type « forêts mélangées » au site A et une prédominance de pâtures de type agricole et urbain (« surfaces agricoles à territoires naturels importants » et « territoire urbain discontinu ») au site B (annexes 6 et 7).

Les prévalences apparentes par site et session sont représentées par des diagrammes sur la carte de distribution des sites de captures de petits mammifères de la figure 9 ci-dessous.

La géolocalisation n'a pas été renseignée pour l'ensemble des fouines et ragondins : la commune de Sourcieux-les-Mines (n=2) est moins représentée que celles de Bully (n=13) et de Lentilly (n=11) (annexe 9).

Sur la carte globale de répartition spatiale des ragondins et fouines piégés en annexe 5, davantage de ragondins et fouines capturés étaient infectés au nord-ouest de la zone d'étude. Ces individus sont issus des pâtures de type agricole, l'un d'eux à proximité d'un cours d'eau (individu numéro 37). D'après la carte globale de l'étude, les élevages bovins exposés aux leptospires sont distribués sans pattern spatial apparent (annexe 1).



**Figure 9.** Représentation cartographique des sites de captures de petits mammifères par des diagrammes : nombre d'individus infectés et nombre d'individus non infectés par session et site (CLC 2018). Source : réalisée d'après l'auteur.

## B. Etude analytique

### 1- Sélection de modèle sur AICc

#### a - Établissement d'un ensemble de modèles

Nous avons établi une liste de 19 modèles de régression logistique de Firth (annexe 10). Ils ont été classés par ordre croissant d'AICc (annexe 20), soit du modèle le plus parcimonieux au modèle le moins parcimonieux. Le coefficient de dispersion associé à ce jeu de données a été calculé sur le modèle le plus complet et a été évaluée à 1,26, soit un coefficient négligeable. Le recours aux modèles de régression logistique, à fonction de lien logit, est possible sur ce jeu de données.

#### b - Sélection de modèle sur AICc

Le modèle ayant l'AICc le plus faible est le modèle «Sexe\*Saison». Il s'agit du meilleur modèle de l'ensemble. Son AICc est de 111.78 et son poids d'Akaike est de 0.28. Les delta AICc des modèles suivants dans ce classement sont faibles (annexe 20). Les AICc du meilleur modèle et d'autres modèles de l'ensemble sont proches, et leurs poids d'Akaike peu différents.

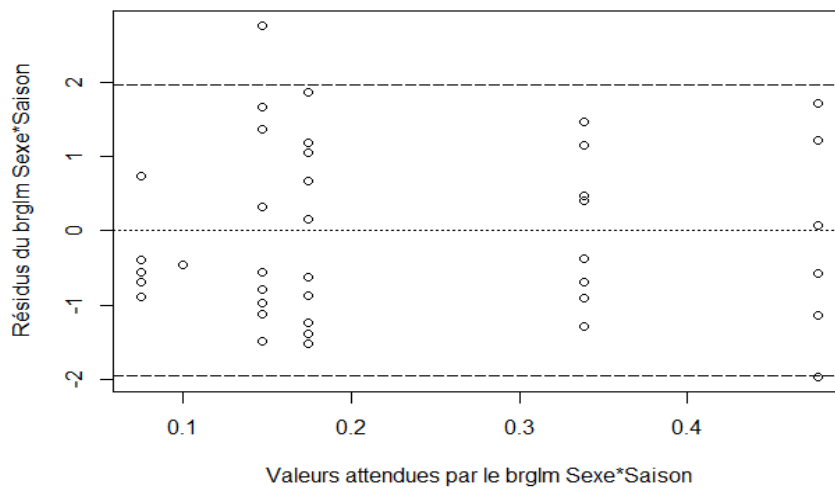
Le modèle «Sexe\*Saison + Espèce», second modèle dans l'ordre de classement, présente un delta AICc de 0.97 et un poids d'Akaike de 0.17. Le modèle «Sexe\*Saison+Espèce» est pertinent d'un point de vue biologique et écologique, nous nous attendions à des variations de prévalence par espèce. Cependant, le modèle Sexe\*Saison n'est construit que sur 6 paramètres, tandis que le modèle «Sexe\*Saison+Espèce» repose sur 8 paramètres, soit 2 de plus que le meilleur modèle. Le modèle «Sexe\*Saison+Espèce» est plus complexe. D'après le principe de parcimonie, le modèle retenu de la sélection sur AICc a été le modèle de régression logistique de Firth «Sexe\*Saison» (modèle interaction sexe et saison).

#### c - Critères d'évaluation graphiques du modèle sélectionné

L'ajustement du modèle «Sexe\*Saison » aux données a été évalué à l'aide de critères graphiques (figures 10 et 11, annexes 21 à 23).

D'après le graphique des valeurs observées en fonction des valeurs attendues par ce modèle (annexe 21), certaines observations sont éloignées des estimations de la régression logistique «Sexe\*Saison», le modèle ne les ajuste pas correctement.

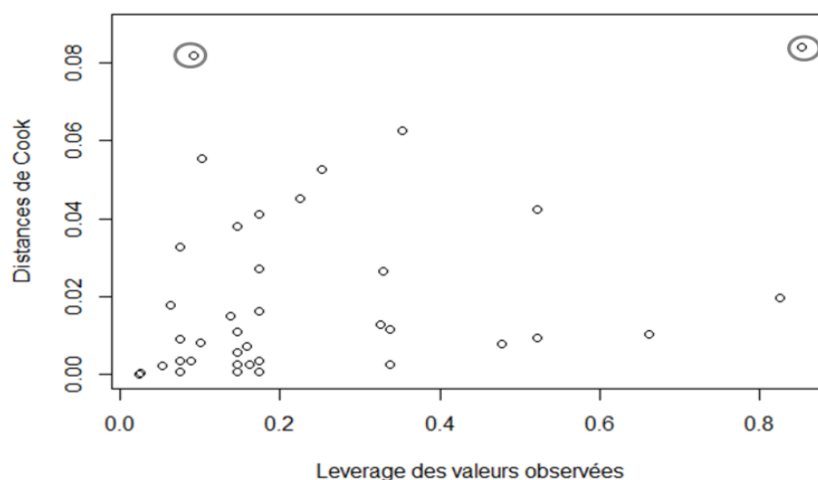
Sur le graphique des résidus standardisés de déviance en fonction des valeurs attendues par le modèle, en figure 10 ci-dessous, la dispersion des résidus est homogène et aléatoire sur l'intervalle  $[-1.96 ; 1.96]$  et centrée sur zéro. La distribution des résidus suit théoriquement une loi asymptotiquement normale centrée réduite, les observations graphiques vont dans ce sens.



**Figure 10.** Graphique des résidus standardisés de déviance en fonction des valeurs attendues par le modèle « Sexe\*Saison ». Source : réalisée d'après l'auteur.

Le graphique des résidus en fonction de l'ordre d'arrivée des valeurs (annexe 22) ne montre pas d'effet cumulatif entre les résidus : graphiquement, les résidus n'apparaissent pas autocorrélés.

Deux observations sont remarquables sur le graphique des distances de Cook en fonction de l'effet de levier, sur la figure 11 ci-dessous. Il s'agit des observations numéro 1 « mulot mâle immature capturé au site A au printemps (session 1) » et numéro 57 « crocudure femelle mature capturée au site A au printemps (session 5) ». Ces observations correspondent respectivement à deux individus positifs sur deux individus capturés, et un individu positif sur un individu capturé. Elles sont influentes, c'est-à-dire que le jeu de données serait très différent sans elles, et atypiques, leurs espérances de résidus étant différentes de zéro. Le résidu de l'observation 1 est de -1.97, et celui de l'observation 57 est de 2.77.



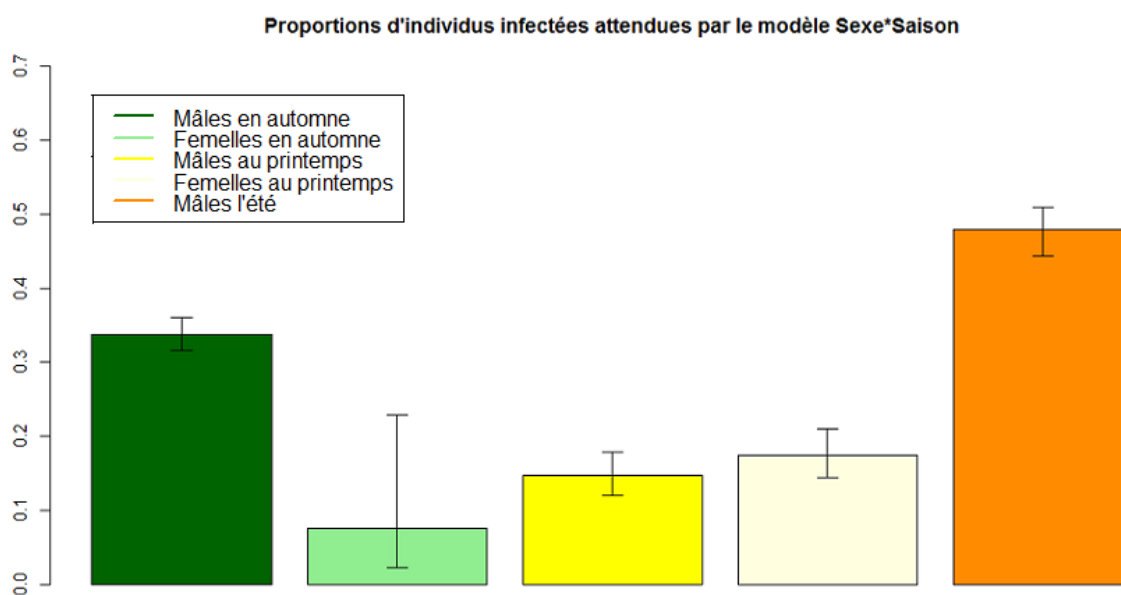
**Figure 11.** Graphique des distances de Cook en fonction du poids levier pour le modèle de régression logistique de Firth « Sexe\*Saison ». Source : réalisée d'après l'auteur.

L'AUC de la courbe ROC (annexe 23) du modèle « Sexe\*Saison » est de 0.77, soit un modèle correct (AUC supérieur à 0.7) mais assez peu discriminant (AUC inférieur à 0.9).

#### d - Estimations du modèle « Sexe\*Saison »

Le modèle «Sexe\*Saison» permet d'estimer cinq proportions d'individus infectés pour ce jeu de données. La modalité « femelles en été » ne peut pas être estimée, la prévalence apparente est nulle : aucune femelle parmi les quatre capturées en été n'était infectée. D'après ces estimations (annexe 24), représentées sur la figure 12 ci-dessous, il est possible de décrire les résultats suivants :

- la probabilité d'infection pour les individus mâles est augmentée en été,
- en automne, la probabilité d'infection est plus élevée pour les individus mâles que pour les individus femelles,
- au printemps, la probabilité d'infection est identique pour les individus mâles et femelles.



**Figure 12.** Estimations des probabilités d'infection par sexe et saison par le modèle de régression logistique de Firth « Sexe\*Saison » issu de la sélection selon l'AICc. Source : réalisée d'après l'auteur.

## 2- Inférence multimodèle

### a - Justification de l'inférence multimodèle

Le poids d'Akaike du meilleur modèle, «Sexe\*Saison», est de 0.28. Il s'agit d'un poids faible, inférieur à 0.9. L'inférence multimodèle est justifiée. Les modèles à poids d'Akaike supérieur ou égal à 10% du poids d'Akaike du modèle «Sexe\*Saison», c'est-à-dire supérieur ou égal à 0.028, sont inclus dans l'inférence multimodèle. Huit modèles issus de l'ensemble défini en 1.a ont été inclus dans cette méthode, il s'agit des modèles M1 à M8 définis en annexe 20.



## b - Estimations des proportions d'individus positifs

La méthode d'inférence multimodèle a permis le calcul de 42 estimations de probabilités « être infecté » sous différentes modalités (annexe 25). Les cinq variables explicatives sont incluses dans les huit modèles utilisés pour ces estimations. Un exemple de calcul de ces estimations est présenté en annexe 10.

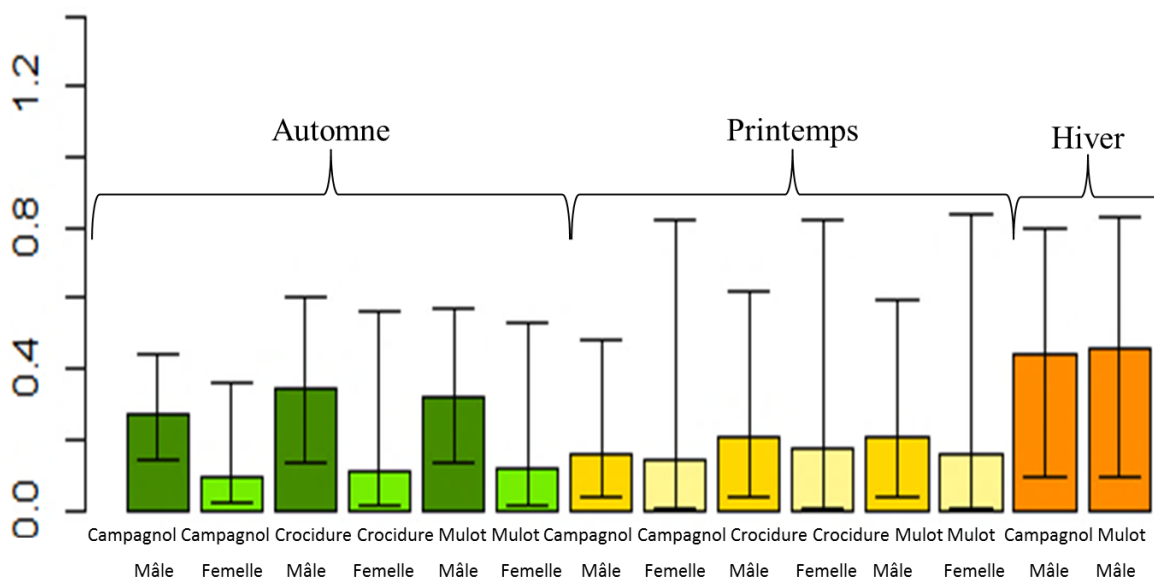
## c - Calcul d'incertitude relative à l'inférence multimodèle

Le pourcentage d'incertitude lié à la sélection de modèles dans l'inférence multimodèle varie entre 25% (modalité « femelles campagnols matures l'automne au site B ») et 235% (modalité « mulots mâles immatures en automne au site B »). Ce pourcentage est en moyenne de 113%, avec une médiane à 97% (annexe 26).

Lors du calcul des erreurs standards des modèles inclus dans l'inférence, le second modèle « Sexe\*Saison + Espèce » présente des erreurs standards élevées pour certaines modalités. Elles sont de: (1) 0.2 pour « mâles crocidures l'automne », (2) 0.12 pour « mâles mulots en automne », (3) 0.3 pour « mâles campagnols en été », (4) 0.5 pour « mulots mâles l'été ». Il s'agit de modalités pour lesquelles respectivement : (1) 6 individus étaient infectés sur 19 capturés, (2) 4 individus étaient infectés sur 13 capturés, (3) 4 individus étaient infectés sur 10 capturés et (4) 6 individus étaient infectés sur 8 capturés. Ces proportions d'individus infectés observées sur de petits effectifs sont relativement élevées.

Les erreurs standards élevées pour ces modalités sont responsables de pourcentages d'incertitudes de l'inférence multimodèle élevés (annexe 27). La variance ajoutée par la sélection de modèles est importante.

Les intervalles de confiance autour des estimations par inférence multimodèle sont larges, approximativement de [0 ; 0.9], comme le montrent la figure 13 ci-dessous et l'annexe 28.



**Figure 13.** Représentation graphique des estimations issues de l'inférence multimodèle pour le stade de maturité sexuelle immature et pour le site A. Source : réalisée d'après l'auteur.

#### **d - Comparaison des résultats du meilleur modèle de régression logistique avec ceux de l'inférence multimodèle**

Le critère d'inclusion des modèles à poids d'Akaike supérieur à 10% du poids d'Akaike du meilleur modèle a inclus dans la méthode d'inférence multimodèle des modèles à quatre variables explicatives, avec interaction. L'augmentation du nombre de variables explicatives incluses dans l'inférence multimodèle, sur un jeu d'échantillonnage de petite taille, ajoute une variance due à la sélection de modèles élevée à la variance d'échantillonnage. Les estimations issues de l'inférence multimodèle sont associées à une forte incertitude.

Les intervalles de confiance autour des cinq proportions d'individus infectés attendues par le modèle de régression logistique de Firth «Sexe\*Saison» sont moins larges que dans le cadre de l'inférence multimodèle. La largeur de ces intervalles varie entre 0.05 et 0.21 (annexe 24). La marge d'erreur autour de ces résultats est moins importante.

## IV. Discussion

Les objectifs de cette étude ont été de décrire les caractéristiques et l'écologie du portage de leptospires par des populations de petits mammifères, en zones d'élevage bovin. Une analyse descriptive de la distribution des individus infectés dans l'échantillon a permis de dégager des facteurs de variation écologiques et populationnels. La variation des prévalences d'infection selon ces facteurs a été estimée à l'aide d'une étude analytique.

### Prévalences et souches de leptospires circulantes

Le portage de leptospires par les petits mammifères dans ce contexte d'élevage bovin a été estimé à 22% (IC<sub>95%</sub> [11% ; 29%]). Ce résultat est relativement élevé, en regard de la prévalence observée à 10% par Mayer-Scholl et al. (2014), sur les espèces *Apodemus flavicollis*, *Clethrionomys glareolus* et *Microtus agrestis*. Une prévalence observée similaire, de 21.5%, a été décrite sur les espèces *Myodes glareolus*, *Apodemus flavicollis*, *Apodemus agrarius*, *Apodemus sylvaticus*, *Sorex araneus*, *Microtus arvalis*, *Microtus agrestis* et *Muscardinus avellanarius* (Tokarz R. et al., 2016). Les prévalences observées par cette étude sur petits mammifères restent inférieures à celles observées sur l'espèce *Rattus norvegicus*, notamment de 34.7% en France métropolitaine (Aviat F. et al., 2009).

La prévalence de l'infection pour l'espèce *Myocastor coypus* a été estimée à 21% (IC<sub>95%</sub> [9.8% ; 38.4%]). Ce résultat est plus élevé que les prévalences décrites par d'autres études, observées entre 3.3% et 16.5% (Aviat F. et al., 2009; Michel V. et al., 2001; Vein J. et al., 2014). La prévalence de l'infection observée pour l'espèce *Marta foina*, de 14% (IC<sub>95%</sub>[2% ; 40%]), est similaire à celle observée par une étude antérieure qui était de 12.1% (Ayrat F. et al., 2016). Cette observation est toutefois à nuancer compte tenu de la faible taille d'échantillon de fouines (n=7).

L'espèce de *Leptospira* majoritairement identifiée chez les petits mammifères a été *L. interrogans*, suivie de *L. kirschneri*. *L. interrogans* n'a été identifiée que chez les mulots. L'étude d'Obiegala et al. (2016) en Allemagne a mis en évidence une prédominance de l'espèce *L. kirschneri*, parmi les petits mammifères, notamment pour les espèces *Sorex araneus*, *Apodemus flavicollis*, *Myodes glareolus*, *Microtus Arvalis*, *Crocidura russula*, *Arvicola terrestris* et *Arvicola agrarius* (Obiegala et al., 2016). L'absence de *L. interrogans* parmi l'échantillon présenté dans Obiegala et al. et sa prédominance dans celui de la présente étude, en particulier parmi les mulots, suggèrent une variation spatiale des leptospires portées parmi les espèces de petits mammifères.

*L. kirschneri* a été identifié chez toutes les espèces de petits mammifères. Cette souche serait commune aux espèces partageant un même habitat, ici l'environnement d'élevage. Chacune des espèces de petits mammifères serait adaptée au portage de l'espèce *L. kirschneri*. Cette observation serait à préciser à l'aide d'identifications moléculaires par séquençage total ou partiel des souches de cette espèce. Une analyse moléculaire plus précise permettrait en effet de définir s'il s'agit, au-delà de l'espèce bactérienne, d'un même profil génétique parmi les leptospires infectant les trois espèces.

L'hypothèse d'un portage spécifique de *L. borgpeterseni* par les individus du genre *Apodemus* a été soulevée par Obiegala et al (2016). Nos résultats, sont eux, en faveur d'un portage spécifique de *L. interrogans* par les individus du genre *Apodemus* (*A. flavicollis* et/ou *A. sylvaticus*). Le portage spécifique du genre *Apodemus* est suggéré à la fois par cette étude et les résultats d'Obiegala et al (2016). La différence d'espèces de *Leptospira* identifiées peut s'expliquer par un environnement différent, notre étude se situant dans un contexte d'élevage.

### **Caractéristiques des populations de petits mammifères infectées aux leptospires**

Une variation du taux de portage bactérien par espèce de petits mammifères était attendue. Toutefois, elle n'a pas été observée par notre étude. Des variations de proportions d'individus infectés par genre ont été observées par Mayer-Scholl et al. (2004) : de 11% (n=2272) pour *Apodemus spp.*, 13% (n=1394) pour *Microtus spp.* et de 20% (n=30) pour *Crocidura*. Une taille d'échantillon plus importante permettrait de confirmer ou d'infirmer l'hypothèse biologique d'une variation du taux de portage entre les espèces de petits mammifères.

Aucune variation du taux de portage en fonction du stade de maturité sexuelle n'a été mise en évidence. Le stade de maturité sexuelle et le poids sont deux indicateurs pour estimer l'âge des individus. L'étude de Fischer (2018) suggérait une prévalence plus élevée pour les individus plus lourds, et ce plus particulièrement pour les espèces *Microtus arvalis* et *Microtus agrestis* (Fischer S. et al., 2018). L'hypothèse que les animaux lourds, donc âgés, étaient plus longtemps exposés avait été suggérée. Dans cette étude, des individus immatures ont été capturés sur l'ensemble des sessions, l'hypothèse d'une reproduction continue sur deux années, en conditions favorables, pouvant expliquer cette observation. La dynamique de reproduction, continue au lieu d'être saisonnière, peut avoir eu un impact sur l'exposition des individus immatures et matures. Chaque petit mammifère serait exposé au même environnement au cours des saisons quel que soit son stade de maturité. La dynamique de reproduction peut amoindrir les variations attendues du portage de leptospires en fonction du stade de maturité sexuelle. Une analyse des données selon la variable poids des individus n'a pas mis en évidence de variation du portage de leptospires sur cet échantillon.

Aucune variation de la prévalence en fonction du sexe n'a été jusqu'à maintenant rapportée chez les petits mammifères. Dans l'étude de Fischer et al. (2018), le sexe n'était pas associé à une variation de la prévalence de *Leptospira* pour les espèces du genre *Microtus*. D'après les résultats de notre étude analytique, les mâles seraient davantage exposés au risque d'infection par les leptospires. Une hypothèse, explicitée par Desvars et al. (2013) sur l'espèce *Rattus rattus*, serait que les individus mâles, plus gros, présentent des reins plus développés et sujets au portage de leptospires.

## Infections pulmonaires aux leptospires

Les poumons de petits mammifères ont été testés par PCR point final à titre exploratoire au cours de cette étude. Treize petits mammifères étaient porteurs de leptospires au niveau pulmonaire, parmi les 37 petits mammifères infectés. Le portage de leptospires dans les tissus pulmonaires a été évalué à 8% (IC<sub>95%</sub> [4% ; 13%]) tandis que le portage rénal a été évalué à 15% (IC<sub>95%</sub> [10% ; 21%]) sur l'échantillon total de petits mammifères capturés. Un individu de l'espèce *Rattus norvegicus*, deux individus de l'espèce *Myocastor coypus* et un individu de l'espèce *Marta fouina* étaient infectés au niveau pulmonaire. Le portage pulmonaire a uniquement été décrit pour le rat surmulot à ce jour (Zilber et al 2016). Notre étude montre que ce type de portage concerne plusieurs espèces de la faune sauvage, et ceci dans une proportion non négligeable. L'observation de la présence de *Leptospira* dans les poumons soulève des questions sur d'éventuelles voies d'excrétions non explorées jusque-là et leurs conséquences sur l'épidémiologie de l'infection.

## Ecologie de l'infection par les leptospires en population de petits mammifères

Dans cette étude, la proportion d'individus infectés la plus élevée a été observée l'été pour les petits mammifères mâles. L'augmentation du nombre d'individus infectés à cette saison correspond à la variation observée en Hongrie par Kurucz et al. (2018) sur les espèces *Apodemus agrarius*, *A. flavicollis*, *A. sylvaticus*, *Microtus arvalis*, and *Myodes glareolus* (Kurucz K. et al., 2018). L'étude de Fischer (2018), réalisée en Allemagne, a mis en évidence un pic saisonnier du nombre d'individus infectés l'automne parmi les espèces *Microtus arvalis* et *Microtus agresti*, tandis que l'espèce *Sorex araneus* était à risque d'infection plus élevé l'été. Les cycles biologiques des petits mammifères étant différents les uns des autres, il peut être suggéré que la prévalence aux leptospires varie en fonction du climat et du cycle de l'espèce. Le résultat de notre étude suggère un taux de portage plus élevé l'été, toutes espèces confondues. Il serait intéressant d'explorer les variations du portage rénal en fonction des saisons et des espèces, afin de mesurer plus précisément l'impact de la saison sur le portage rénal en fonction de l'espèce considérée.

Aucune variation spatiale de la distribution des individus infectés aux leptospires n'a été mise en évidence à l'échelle de cette étude. La zone d'étude était limitée. Une étude à plus grande échelle permettrait de confirmer ou d'infirmer l'absence de variation spatiale de la distribution des individus infectés, en région tempérée et dans un contexte d'élevage bovin.

## Sérogroupe identifiés par méthodes moléculaires

Le profil génétique obtenu par VNTR sur les souches appartenant à l'espèce *L. interrogans* est identique à celui de souches de référence du sérovar Bratislava, du séroroupe Australis. D'après les résultats d'une méthode interne en cours de développement, des profils génétiques non interprétables par VNTR seraient apparentés au séroroupe Grippytyphosa. Ces profils ont été identifiés sur deux individus du genre *Apodemus*. Les deux sérogroupe mis en évidence sur cette espèce ont été identifiés par MAT dans les élevages bovins de la zone d'étude (Delaborde H., 2019). L'existence de sérogroupe communs entre les espèces de la faune sauvage, dont plus particulièrement le genre *Apodemus*, et les animaux d'élevage est en faveur de l'hypothèse d'une transmission de leptospires au sein du même écosystème.

## Modèles analytiques

L'analyse des données a été réalisée à partir de régressions logistiques de Firth et par inférence multimodèle. La régression logistique de Firth du modèle avec interaction sexe et saison permet d'identifier des saisons estimées plus à risque d'infection des hôtes en fonction de leur sexe. Cependant, pour ce jeu de données, le meilleur modèle présente un AICc proche des autres modèles de l'ensemble de sélection (delta AICc de 0.96 avec le second modèle du classement), la notion de « meilleur » modèle issu de la sélection est à relativiser.

Le recours à l'inférence multimodèle a permis d'inclure les estimations de sept autres modèles de l'ensemble, et de prendre en compte des variables explicatives que le modèle interaction sexe et saison, par définition, ne prenait pas en compte. L'incertitude due à la sélection de modèles limite l'interprétation de ces estimations.

Le modèle interaction sexe et saison avec la variable espèce en additif est précisément le modèle qui ajoute de l'incertitude aux estimations de l'inférence multimodèle pour certaines modalités. L'espèce crocidure n'a pas été capturée de manière régulière, et n'était pas ciblée par le protocole. Le jeu de données est déséquilibré pour la variable espèce.

L'ensemble de modèles testés par sélection sur AICc inclut 19 modèles, univariés et multivariés. Afin d'améliorer la sélection de modèle, l'étape de définition de l'ensemble de modèles pourrait être reprise sous deux contraintes : se limiter à des modèles simples et se limiter dans le nombre de modèles de l'ensemble. En effet, un ensemble de modèles plus sélectif, selon ces deux critères, permettrait éventuellement d'obtenir de meilleures estimations, pour ce jeu de données, avec un pourcentage d'incertitude moindre, par inférence multimodèle.

Le modèle sexe interaction saison a été validé d'après critères graphiques. Ce modèle présente un bon ajustement aux données et est économe en paramètres. Ce modèle présente l'intérêt d'estimer la prévalence du portage de leptospires par les populations de petits mammifères en fonction des saisons et en fonction du *sex ratio* de ces populations. Le caractère prédictif de ce modèle selon ces variables permet d'estimer l'exposition des animaux d'élevage, dans l'hypothèse d'une transmission indirecte importante des petits mammifères de la faune sauvage aux bovins. L'étude analytique, bien que réalisée sur un échantillon de petite taille, permet ainsi de dégager des paramètres de variation de la prévalence du portage de leptospires par les petits mammifères. La compréhension de ces variations permettrait, à terme, de proposer des conduites en élevage afin de limiter la transmission de leptospires aux animaux d'élevage.

## V. Conclusion

La présente étude a permis de décrire l'écologie et les caractéristiques du portage de *Leptospira* par des populations de petits mammifères issues de zones d'élevage. Les prévalences observées sont élevées, et similaires entre les trois espèces cibles, mulots, campagnols et crocidures. Les résultats d'analyses moléculaires sont en faveur de la circulation prépondérante de deux espèces de leptospires *L. interrogans* et *L. kirschneri* parmi les petits mammifères. Seuls, les mulots (genre *Apodemus*) étaient infectés par *L. interrogans* apparenté au séro-groupe Australis suggérant leur portage sélectif alors que chacune des trois espèces de mammifère pouvait être infectée par *L. kirschneri*. Un portage sélectif pourrait impliquer un rôle épidémiologique particulier des mulots dans la persistance de ces leptospires au sein de l'écosystème. Ces résultats, mis en perspective avec l'exposition rapportée des élevages aux Leptospires de ce même séro-groupe Australis, suggèrent une circulation bactérienne à l'interface des faunes sauvage et domestique ou l'exposition à une source commune. Une étude plus approfondie du génome des leptospires et de leur distribution pour chacune des espèces animales de l'écosystème permettrait de préciser leur rôle épidémiologique. Enfin, les résultats de l'analyse statistique suggèrent une variation du taux de portage des petits mammifères selon le sexe et la saison. Une étude longitudinale plus longue incluant une analyse des variables écologiques, permettra d'affiner la compréhension de la variation saisonnière observée.

Pour un élevage bovin, l'été apparaît comme la saison associée à un risque plus élevé d'infection du troupeau par contact avec des pâtures ou des sources d'abreuvement souillées par des urines de petits mammifères infectés. Sur la base de ces observations, il est recommandé d'éviter les pâtures humides l'été ou proches de cours d'eau, et de renouveler les sources d'abreuvement régulièrement. Les leptospires identifiées étant également pathogènes pour l'Homme, des mesures d'hygiène pour l'éleveur (nettoyage régulier des mains et du matériel) et le port de gants sont recommandées plus particulièrement en été. La compréhension du cycle épidémiologique des leptospires dans le contexte de l'élevage est une application de l'approche « une seule santé » pour mieux prévenir l'exposition des personnes en plus de celle des animaux d'élevage.





# Bibliographie

- Abadia G., Andre-Fontaine G., Baranton G., Bonnier M., Dantoine F., Capek I., Estavoyer J.M., Languille J., Lesrasle S., Morer I., Rousseau E., Knauer A., 2005. Nouvelles recommandations relatives à la prévention du risque chez les personnes exposées à la leptospirose. Rapport du groupe de travail du Conseil supérieur d'hygiène publique de France.
- Adler B., De la Peña Moctezuma A., 2010. *Leptospira* and leptospirosis. *Vet. Microbiol.* 140, 287–296.
- Ahmed N., Devi S.M., De los Á Valverde M., Vijayachari P., Machang'u R.S., Ellis W.A., Hartskeerl R.A., 2006. Multilocus sequence typing method for identification and genotypic classification of pathogenic *Leptospira* species. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 5, 28.
- Andre-Fontaine G., Aviat F., Thorin C., 2015. Waterborne Leptospirosis: Survival and Preservation of the Virulence of Pathogenic *Leptospira* spp. in Fresh Water. *Curr. Microbiol.* 71, 136–142.
- Andre-Fontaine G., Lefur C., Bellin J., Robast C., 2005. Rapport de l'activité diagnostique de l'Unité de Bactériologie Médicale et Moléculaire des Leptospires. Ecole vétérinaire de Nantes.
- Andre-Fontaine G., Nicholas D., Scalzo B., Keita A., Nanjiani I., 2010. Prévalence sérologique de la leptospirose à *Leptospira* sérovar hardjo chez les bovins femelles adultes en France en 2004. *Bull. GTV* 55, 67–74.
- Aviat F., Blanchard B., Michel V., Blanchet B., Branger C., Hars J., Mansotte F., Brasme L., De Champs C., Bolut P., Mondot P., Faliu J., Rochereau S., Kodjo A., Andre-Fontaine G., 2009. *Leptospira* exposure in the human environment in France: A survey in feral rodents and in fresh water. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 32, 463–476.
- Ayral F., 2013. La leptospirose dans les cheptels bovins laitiers en France : impact économique de l'infection. *Bull. GTV* 69, 61–63.
- Ayral F., Bicout D., Pereira H., Artois M., Kodjo A., 2014. Distribution of *Leptospira* Serogroups in Cattle Herds and Dogs in France. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 91, 756–759.
- Ayral F., Djelouadji Z., Raton V., Zilber A.L., Gasqui P., Faure E., Baurier F., Vourc'h G., Kodjo A., Combes B., 2016. Hedgehogs and Mustelid Species: Major Carriers of Pathogenic *Leptospira*, a Survey in 28 Animal Species in France. *PLoS One* 11, e0162549.
- Ayral F., Kodjo A., Guédon G., Boué F., Richomme C., 2020. Muskrats are greater carriers of pathogenic *Leptospira* than coypus in ecosystems with temperate climates. *PLoS One* 15, e0228577.
- Ayral F., Zilber A.L., Kodjo A., Djelouadji Z., Bicout D., 2015. Distribution of *Leptospira interrogans* by Multispacer Sequence Typing in Urban Norway Rats (*Rattus norvegicus*): A Survey in France in 2011-2013. *PLoS One* 10, e0139604.

- Bharti A., Nally J., Ricaldi J., Matthias M., Diaz M., Lovett M., Levett P., Gilman R., Willig M., Gotuzzo E., Vinetz J., 2003. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *Lancet Infect. Dis.* 3, 757–771.
- Blackmore D. K., 1979. The nidity of Zoonoses, Proceedings of the 2nd International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics.
- Burnham, K.P., Anderson, D.R. (Eds.), 2004. Model Selection and Multimodel Inference. Springer, New York.
- Costa F., Hagan J., Calcagno J., Kane M., Torgerson P., Martinez-Silveira M., Stein C., Abela-Ridder B., Ko A., 2015a. Global Morbidity and Mortality of Leptospirosis: A Systematic Review. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 9, e0003898.
- Costa F., Wunder E., De Oliveira D., Bisht V., Rodrigues G., Reis M., Ko A., Begon M., Childs J., 2015b. Patterns in *Leptospira* Shedding in Norway Rats (*Rattus norvegicus*) from Brazilian Slum Communities at High Risk of Disease Transmission. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 9, e0003819.
- Darras C., 2004. Etude comparée des séroprévalences vis-à-vis des leptospires des rongeurs aquatiques et des bovins (à partir d'une enquête menée sur 26 départements). Thèse d'exercice vétérinaire n°63, Faculté de médecine de Nantes.
- Delaborde H., 2019. Exposition et infection par les leptospires pathogènes en élevages bovins : étude de terrain dans l'Ouest Lyonnais, indicateurs du risque d'exposition et rôle de la faune sauvage, Thèse d'exercice vétérinaire n°95, Université Claude Bernard Lyon 1.
- Desvars A., Michault A., Chiroleu F., 2013. Influence of risk factors on renal leptospiral load in naturally infected wild black rats. *Acta Trop.* 125, 258–261.
- Ellis W., 2015. Animal Leptospirosis. In: Adler, B. (Ed.), *Leptospira and Leptospirosis*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 99–137.
- Ellis W., O'Brien J., Bryson D., Mackie D., 1985. Bovine leptospirosis: some clinical features of serovar Hardjo infection. *Vet. Rec.* 117, 101–104.
- Fávero J., De Araújo H., Lilenbaum W., Machado G., Tonin A., Baldissera M., Stefani L., Da Silva A., 2017. Bovine leptospirosis: Prevalence, associated risk factors for infection and their cause-effect relation. *Microb. Pathog.* 107, 149–154.
- Firth D., 1993. Bias reduction of maximum likelihood estimates. *Biometrika* 80, 27–38.
- Fischer S., Mayer-Scholl A., Imholt C., Spierling N., N.G., Heuser E., Schmidt S., S., Reil D., Rosenfeld U., Jacob J., Nöckler K., Ulrich R., 2018. *Leptospira* Genomespecies and Sequence Type Prevalence in Small Mammal Populations in Germany. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 18, 188–199.
- Francois Barbagelata S., Brihuega Fernández B., Grune Loffler S., Gattarello Marcos V., Correa Pérez D., Petrakovsky Melillo J., Gualtieri Serragatta C., Arestegui De Luca M., 2013. Aislamiento de *Leptospira borgpetersenii* de fuentes de agua en Argentina. *Rev. Cubana Med. Trop.* 65, 177–184.

- Fromental P., 2004. Infection des rongeurs sauvages par les leptospires en Nord-Isère : Etude comparée de la prévalence sérologique et du portage rénal. Thèse d'exercice vétérinaire n°17, Faculté de médecine de Nantes.
- Gazso F., 2017. Distribution des sérogroupes de *Leptospira* chez les bovins en France métropolitaine. Rapport de Master 1 Physiopathologie des maladies transmissibles. Université Claude Bernard Lyon 1.
- Gomes Olímpia D., Chagas Gonçalves da Silva L., Ramos Bim G., Ciuffa Zago A., Rezende Miguel L., Cuccato Pinho L., Reis Fernanda Martins dos T., Pires Cabral B., Lima Monteiro Correia A., C., 2018. Biofilm Production of *Leptospira* spp. Strains. *Acta Sci. Vet.* 46, 5.
- Haydon D., Cleaveland S., Taylor L., Laurenson K., 2002. Identifying reservoirs of infection: a conceptual and practical challenge. *Emerg. Infect. Dis.* 8, 1468–1473.
- Kurucz K., Madai M., Bali D., Hederics D., Horváth G., Kemenesi G., Jakab F., 2018. Parallel Survey of Two Widespread Renal Syndrome-Causing Zoonoses: *Leptospira* spp. and *Hantavirus* in Urban Environment, Hungary. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 18, 200–205.
- Leonard F., Quinn P., Ellis W., O'Farrell K., 1992. Duration of urinary excretion of leptospires by cattle naturally or experimentally infected with *Leptospira interrogans* serovar hardjo. *Vet. Rec.* 131, 435–439.
- Levett P., 2001. Leptospirosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 14, 296–326.
- Levett P., 2015. Systematics of Leptospiraceae. In: Adler, B. (Ed.), *Leptospira and Leptospirosis*. Springer, Berlin, pp. 11–20.
- Levett, P.N., 2003. Usefulness of Serologic Analysis as a Predictor of the Infecting Serovar in Patients with Severe Leptospirosis. *Clin. Infect. Dis.* 36, 447–452.
- Levett P.N., Walton D., Waterman L. D., Whittington C. U., Mathison G. E., Everard C. O., Edwards C. O., 1998. Surveillance of leptospiral carriage by feral rats in Barbados. *West Indian Med. J.* 47, 15–17.
- Machang'u R.S., Mgone G.F., Assenga J., Mhamphi G., Weetjens B., Cox C., Verhagen R., Sondij S., Goris M.G., Hartskeerl R.A., 2004. Serological and molecular characterization of leptospira serovar Kenya from captive African giant pouched rats (*Cricetomys gambianus*) from Morogoro Tanzania. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 41, 117–121.
- Masri S. A., Nguyen P. T., Gale S. P., Howard C. J., Jung S. C., 1997. A polymerase chain reaction assay for the detection of *Leptospira* spp. in bovine semen. *Can. J. Vet. Res.* 61, 15–20.
- Mayer-Scholl A., Hammerl J., Schmidt S., Ulrich R., Pfeffer M., Woll D., Scholz H., Thomas A., Nöckler K., 2014. *Leptospira* spp. in Rodents and Shrews in Germany. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 11, 7562–7574.
- Mérien F., Amouriaux P., Perolat P., Baranton G., Saint Girons I., 1992. Polymerase chain reaction for detection of *Leptospira* spp. in clinical samples. *J. Clin. Microbiol.* 30, 2219–2224.

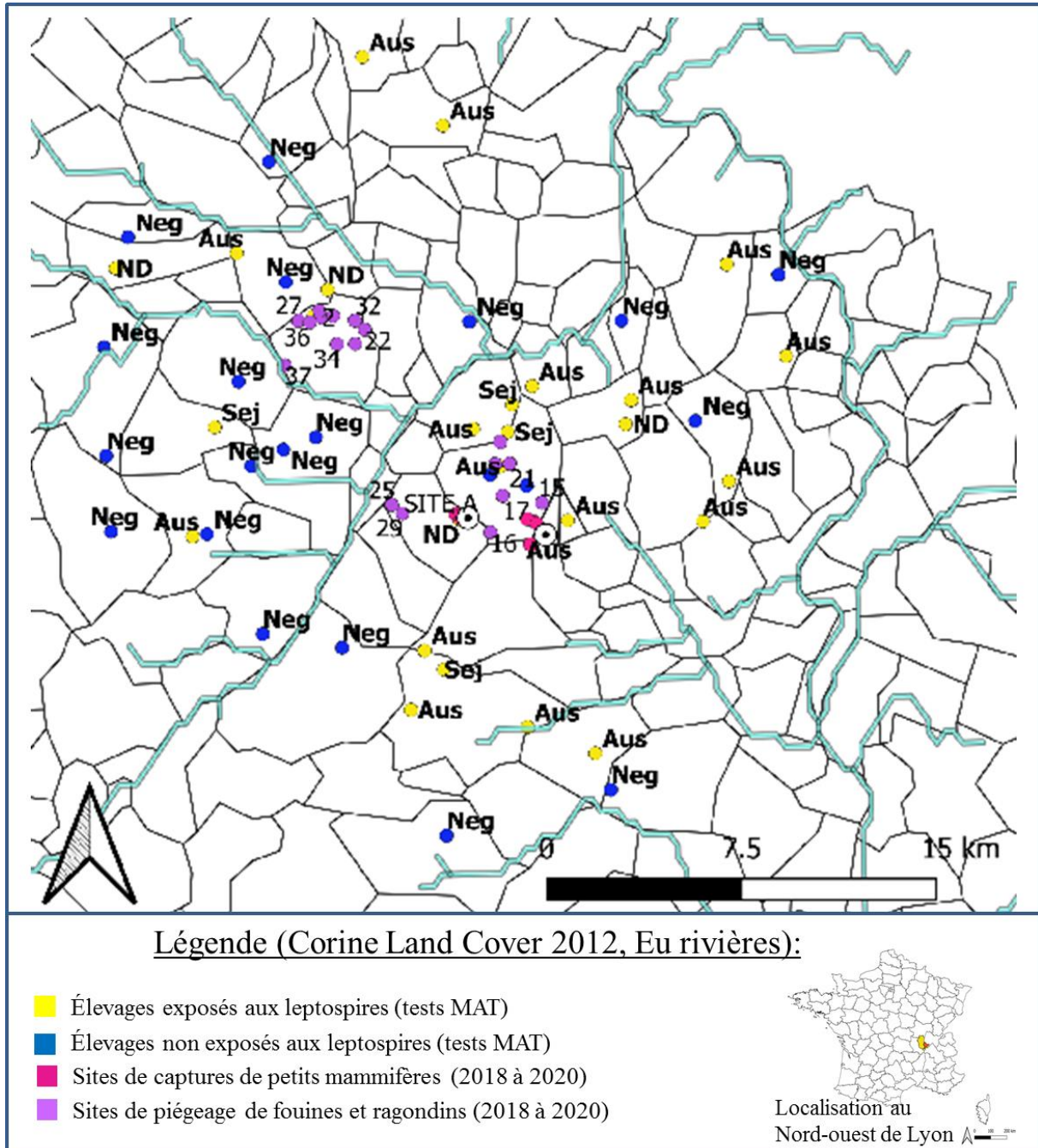
- Messaoud K., 2017. Leptospirose bovine en France métropolitaine : prévalence et facteurs de risques. Rapport de Master 2 Santé Publique Spécialité Epidémiologie et Gestion des risques. Université Claude Bernard Lyon 1.
- Michel V., Ruvoen-Clouet N., Menard A., Sonrier C., Fillonneau C., Rakotovo F., Ganière J. P., André-Fontaine G., 2001. Role of the coypu (*Myocastor coypus*) in the epidemiology of leptospirosis in domestic animals and humans in France. *Eur. J. Epidemiol.* 17, 111–121.
- Miller M.D., Annis K.M., Lappin M.R., Lunn K.F., 2011. Variability in Results of the Microscopic Agglutination Test in Dogs with Clinical Leptospirosis and Dogs Vaccinated against Leptospirosis: Canine Leptospirosis MAT Variability. *J. Vet. Intern. Med.* 25, 426–432.
- Obiegala A., Karnath C., C., Silaghi C., C., Schex S., S., 2016. Prevalence and Genotype Allocation of Pathogenic *Leptospira* Species in Small Mammals from Various Habitat Types in Germany. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 10, e0004501.
- Picardeau M., 2013. Diagnosis and epidemiology of leptospirosis. *Médecine Mal. Infect.* 43, 1–9.
- Quéré J.P., Le Louarn H., 2011. Les rongeurs de France - Faunistique et biologie, Collection Guide pratique 3ème édition. ed. INRA, Jouy-en-Josas.
- Ristow P., Bourhy P., Kerneis S., Schmitt C., Prevost M.C., Lilenbaum W., Picardeau M., 2008. Biofilm formation by saprophytic and pathogenic leptospire. *Microbiology* 154, 1309–1317.
- Salaun L., Merien F., Gurianova S., Baranton G., Picardeau M., 2006. Application of Multilocus Variable-Number Tandem-Repeat Analysis for Molecular Typing of the Agent of Leptospirosis. *J. Clin. Microbiol.* 44, 3954–3962.
- Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S., 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Mol. Biol. Evol.* 28, 2731–2739.
- Tokarz R., Markotić A., Margaletić J., Lipkin W.I., Habuš J., Jain K., Turk N., Svoboda P., Vucelja M., Desai A., Tadin A., 2016. Molecular Survey of Zoonotic Agents in Rodents and Other Small Mammals in Croatia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 94, 466–473.
- Trap D., 1988. Les petits mammifères sauvages, source de leptospirose. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 7, 885–892.
- Tresse L., Rubeaux D., Kodjo A., André-Fontaine G., Mascaron L., 2009. Enquête sur l'infection des bovins par les leptospire en région Ouest. *Renc. Rech. Ruminants* 16, 274.
- Trueba G., Zapata S., Madrid K., Cullen P., Haake D., 2004. Cell aggregation: a mechanism of pathogenic *Leptospira* to survive in fresh water. *Int. Microbiol. Off. J. Span. Soc. Microbiol.* 7, 35–40.

- Vein J., Leblond A., Belli P., Kodjo A., Berny P., 2014. The role of the coypu (*Myocastor coypus*), an invasive aquatic rodent species, in the epidemiological cycle of leptospirosis: a study in two wetlands in the East of France. *Eur. J. Wildl. Res.* 60, 125–133.
- Vincent A., Schiettekatte O., Goarant C., Neela V.K., Bernet E., Thibeaux R., Ismail N., Mohd Khalid M., Amran F., Masuzawa T., Nakao R., Amara Korba A., Bourhy P., Veyrier F., Picardeau M., 2019. Revisiting the taxonomy and evolution of pathogenicity of the genus *Leptospira* through the prism of genomics. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 13, e0007270.
- Yusof M.A., Mohd-Taib F.S., Ishak S.N., Md-Nor S., Md-Sah S.A., Mohamed N.Z., Azhari N.N., Neela V., Sekawi Z., 2019. Microhabitat Factors Influenced the Prevalence of Pathogenic *Leptospira* spp. in Small Mammal Host. *EcoHealth* 16, 260–274.
- Zilber A.L., Belli P., Artois M., Kodjo A., Djelouadji Z., 2016. First Observation of *Leptospira interrogans* in the Lungs of *Rattus norvegicus*. *BioMed Res. Int.* 2016, 1–8.
- Zilber A.-L., Picardeau M., Ayrat F., Artois M., Demont P., Kodjo A., Djelouadji Z., Onderdonk A.B., 2014. High-Resolution Typing of *Leptospira interrogans* Strains by Multispacer Sequence Typing. *J. Clin. Microbiol.* 52, 564–571.



# Annexes

**Annexe 1.** Distribution spatiale des sites d'étude : résultats sur les élevages bovins (négatif, sérotype Australis, sérotype Sejroe), numéros d'individus fouines et ragondins, sites de captures de petits mammifères (CLC 2012, Eu Rivières 2015).



**Annexe 2.** Caractéristiques biologiques et comportementales des espèces de l'étude (Quéré, Le Louarn, 2011).

Nom latin	Nom commun	Habitat	Comportement	Périmètre d'action et densité	Longévité
<i>Crocidura russula</i>	Crocidure	Landes, prairies, lisières de bois	Territorial sauf en période de reproduction	100 m <sup>2</sup> ; 12 individus/ ha maximum ; pic de population l'été, minimum l'hiver	13 mois (forte mortalité des juvéniles)
<i>Apodemus</i>	Mulot	Bois, champs, haies	Territorial l'été et non l'hiver	100 m <sup>2</sup> ; jusque 100 individus/ha (espèce prolifique)	12 à 18 mois
Genres <i>Arvicola</i> et <i>Microtus</i>	Campagnol	Prairies pâturées, zones de culture	Territorial l'été (portées)	1500m <sup>2</sup> mâles et 350m <sup>2</sup> femelles ; NR	19 mois
<i>Myocastor Coypus</i>	Ragondin (maturité sexuelle à 6 mois)	Berges, marais, zones de culture	Crépusculaire et nocturne,	1.5 ha ; NR (espèce prolifique)	4 à 5 ans
<i>Marta Foina</i>	Fouine (maturité sexuelle à 1-2ans)	Lisières de bois	Nocturne, solitaire (conflits intra-spécifiques fréquents)	80 ha de domaine vital (variable), NR	Jusque 8 ans

**Annexe 3.** Exemple de pose de pièges pour la session de captures numéro 4 au site A (Source : Google Maps, consulté en mars 2020).

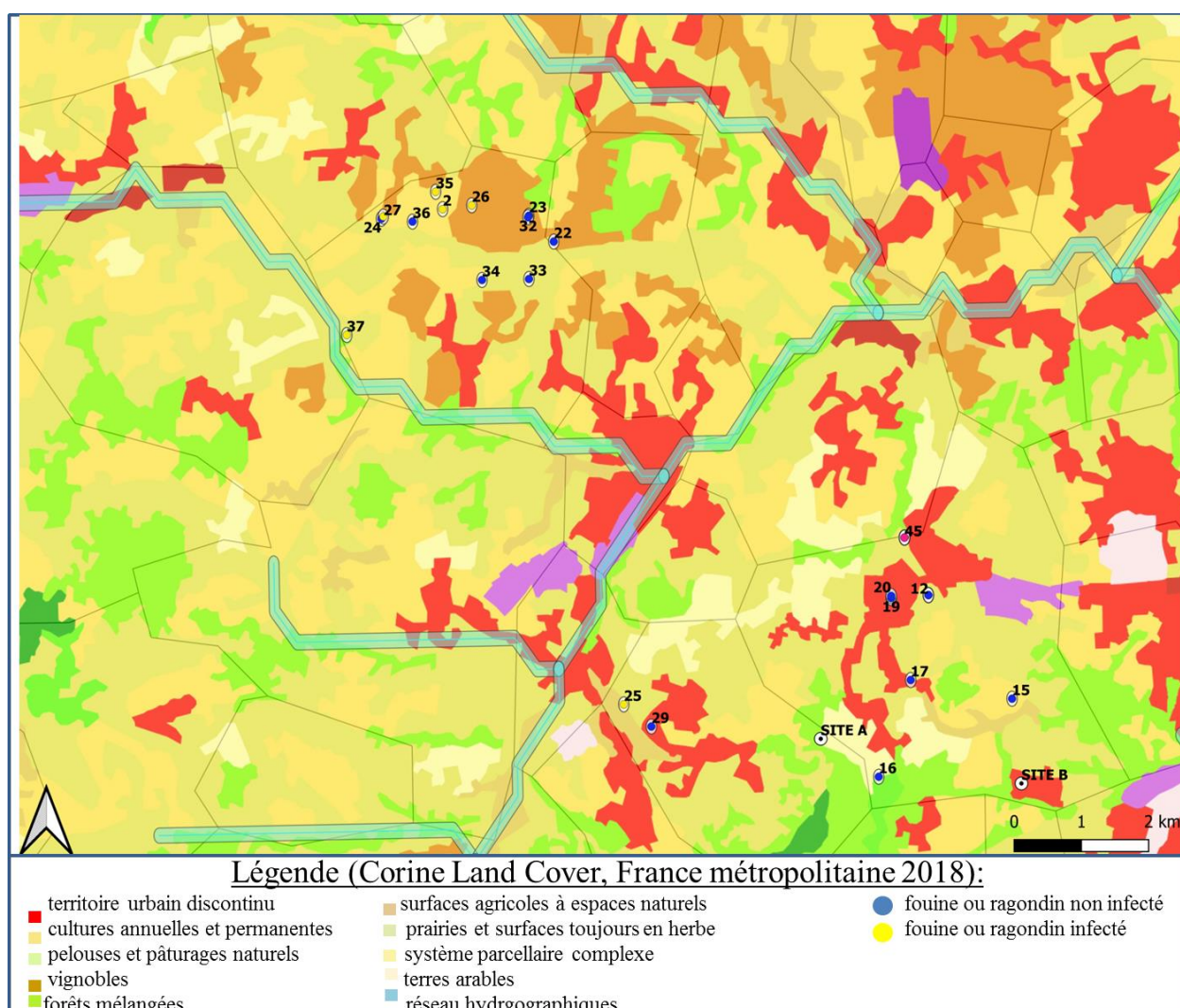




**Annexe 4.** Exemple de pose de pièges pour la session de captures numéro 4 au site B  
(Source : Google Maps, consulté en mars 2020).



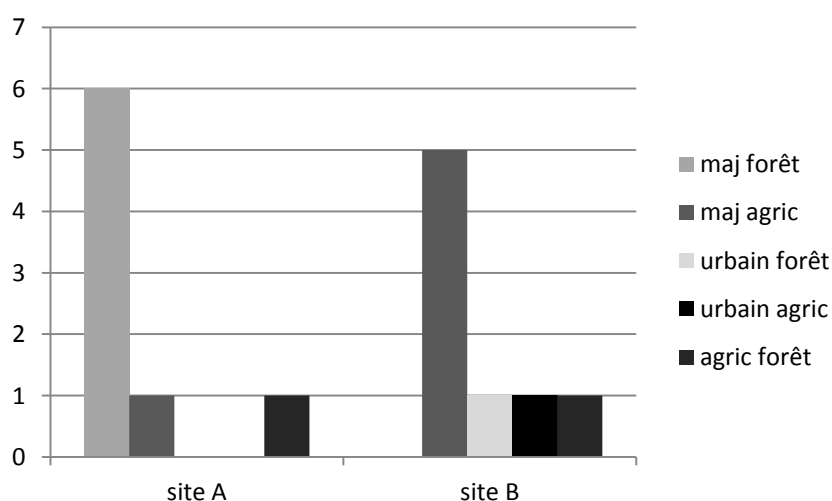
**Annexe 5.** Représentation cartographique des sites de piégeages de fouines et ragondins et de la distribution spatiale des individus infectés (CLC 2018).



**Annexe 6.** Typologies des pâtures utilisées pour les captures de petits mammifères.

Site	Session	urbain	agricole	forêt	Utilisation du sol principale
A	1	0	0,2	0,8	forêt
A	2	0	0,1	0,9	forêt
A	3	0	1	0	agricole
A	4	0	0,2	0,8	forêt
A	5	0	0,3	0,7	forêt
A	6	0	0,6	0,4	forêt
A	7	0	0,3	0,7	forêt
A	8	0	0,6	0,4	forêt
B	1	0	1	0	agricole
B	2	0	1	0	agricole
B	3	0,6	0	0,4	urbain
B	4	0,4	0,6	0	urbain et agricole
B	5	0	1	0	agricole
B	6	1	0	0	agricole
B	7	0,8	0,2	0	agricole et forêt
B	8	0	0,5	0,5	agricole

**Annexe 7.** Répartition des typologies des sites de capture aux élevages A et B (CLC 2018).

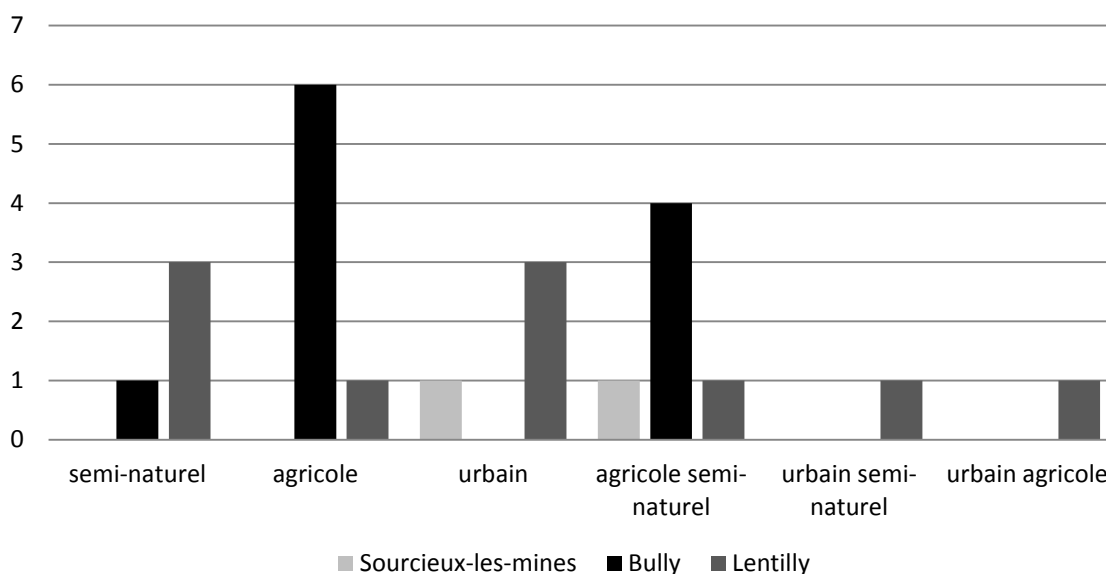


**Annexe 8.** Typologies des sites de captures de fouines et ragondins (CLC 2018).

Id	semi-naturel	agricole	urbain	Utilisation du sol principale
2	0	1	0	agricole
12	1	0	0	semi-naturel
13	1	0	0	semi-naturel
14	1	0	0	semi-naturel
15	0	1	0	agricole
16	0,6	0,4	0	agricole semi-naturel
17	0,4	0	0,6	urbain semi-naturel
18	0	0	1	urbain
19	0	0	1	urbain
20	0	0	1	urbain
22	0,4	0,6	0	agricole semi-naturel
24	0	1	0	agricole
25	0,4	0,6	0	agricole semi-naturel
26	0	1	0	agricole
27	0	1	0	agricole
28	0	0,6	0,4	urbain agricole
29	0	0	1	urbain
32	0	1	0	agricole
33	1	0	0	semi-naturel
34	0,4	0,6	0	agricole semi-naturel
35	0	1	0	agricole
36	0,3	0,7	0	agricole semi-naturel
37	0,8	0,2	0	agricole semi-naturel

**Annexe 9.** Répartition des typologies des sites de piégeages de fouines et ragondins entre les 3 communes de piégeages (CLC 2018).

**Typologie des sites de piégeage  
ragondins et fouines (CLC, 2018)**



**Annexe 10.** Extraits du script utilisé dans le logiciel R 3.6.3 : sélection de modèles, exemple de calcul d'estimation par inférence multimodèle, exemple de calcul de l'erreur standard de l'estimation issue de l'inférence multimodèle.

**#1. Elaboration de l'ensemble de modèles de régression logistique de Firth**

**## Modèles univariés ##**

```
sexe <- brglm(formula = cbind(pos, neg) ~ Sexe, family = binomial(link = "logit"), BDD)
saison <- brglm(formula = cbind(pos, neg) ~ Saison, family = binomial(link = "logit"), BDD)
# même commande pour les variables « espèce », « site », « stade », « session »
# inclure un modèle sans variable explicative
nul <- brglm(formula = cbind(pos, neg) ~ 1, family = binomial(link = "logit"), BDDInt)
```

**## Modèles multivariés ##**

```
M1 <- brglm(formula = cbind(pos, neg) ~ Sexe*Saison, family = binomial(link = "logit"),
data = BDD)
M2 <- brglm(formula = cbind(pos, neg) ~ Sexe * Saison + Espèce, family = binomial(link =
"logit"), data = BDD)
M3 <- brglm(formula = cbind(pos, neg) ~ Sexe+Saison, family = binomial(link = "logit"),
data = BDD)
# même commande pour les 9 autres modèles multivariés de l'ensemble défini
```

## # 2. Sélection de modèles

# fonction AICc du package AICmodavg sur chaque modèle :

```
library(AICcmodavg)
AICc(M1)
```

```
## Détermination des AIC corrigés de Mod1 à M12, ainsi que sur les modèles univariés
## (saison, site, sexe, espece, stade, session) et le modèle nul.
```

```
## Calcul des poids d'Akaike avec la fonction «Weights» du même package.
```

```
round(Weights(AICc(M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M9, M10, M11, M12, saison, site,
espece, stade, saison)), 3)
```

```
# On obtient en sortie les poids rangés dans le même ordre que les modèles d'entrée. Attention
# ils sont déterminés relativement les uns aux autres (dépendent du set de modèles en entrée).
# On réutilisera cette fonction pour l'inférence multimodèle, en veillant à recalculer ces poids
# sur les modèles inclus pour cette méthode.
```

## #3. Calcul des estimations dans le cadre de l'inférence multimodèle

```
# Exemple pour une estimation sur les 3 modèles « Sexe*Saison », « Sexe*Saison + Espèce »
# et « Sexe+Saison ».
```

```
summary(M1) #pour plus de facilité de lecture, je n'afficherais pas tous les coefficients.
```

```
Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
```

```
(Intercept) -0.6712 0.3679 -1.824 0.0681
```

```
#Intercept de M1 : mâle l'automne
```

```
summary(M2)
```

```
Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
```

```
(Intercept) -1.3657 0.5441 -2.510 0.0121
```

```
#Intercept de M2: campagnol mâle l'automne
```

```
summary(M3)
```

```
Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
```

```
(Intercept) -0.9254 0.3504 -2.641 0.00827
```

```
#Intercept de M3 : mâle l'automne
```

```
#Calcul des estimations de chaque modèle p(M1), p(M2) et p(M3) :
```

```
p(M1)= exp(-0.6712) / (1+ exp (-0.6712)) #coefficient de M1 -0.6712
```

```
p(M2)= exp(-1.3657) / (1+ exp (-1.3657)) # coefficient de M2 -1.3657
```

```
p(M3)= exp(-0.9254) / (1+ exp (-0.9254)) # coefficient de M3 -0.9254
```

# on obtient  $p(M1)=0.28$  ,  $p(M2)=0.34$  et  $p(M3)=0.20$ .

**# Calcul des poids d'Akaike sur un ensemble constitué de ces trois modèles:**

```
round(Weights(AICc(M1, M2, M3), 3)
```

#Soit  $p(\text{inference})$  la probabilité estimée d'après inférence sur ces 3 modèles pour un mâle campagnol d'être infecté l'été.

```
#  $p(\text{inference}) = \text{poids M1} * p(M1) + \text{poids M2} * p(M2) + \text{poids M3} * p(M3)$ 
```

```
# ici les poids respectifs de M1, M2 et M3 sont 0.507, 0.299 et 0.194.
```

```
 $p(\text{inference}) = 0.507*0.28 + 0.299*0.34 + 0.194*0.20 = 0.28$  #arrondi à 2 chiffres significatifs
```

#### **#4. Calculs des erreurs standards par la méthode delta**

#Exemple sur le même exemple que précédemment (estimations).

```
library(msm)
```

```
# on reprend les coefficients issus des summary des modèles.
```

```
estmean1=M1$coefficient # coefficients du modèles (cf. summary)
```

```
estvar1=vcov(M1) # variances de ces coefficients (matrice variance covariance)
```

```
err (M1) <- deltamethod( ~ exp(-0.6712) / (1+ exp (-0.6712)), estmean1(1), estvar1[1,1])
```

```
estmean2=M2$coefficient
```

```
estvar2=vcov(M2)
```

```
err (M2) <- deltamethod( ~ exp(-1.3657) / (1+ exp (-1.3657)), estmean2(1), estvar3[1,1])
```

```
estmean3=M3$coefficient
```

```
estvar3=vcov(M3)
```

```
err (M1) <- deltamethod( ~ exp(-0.9254) / (1+ exp (-0.9254)), estmean3(1), estvar3[1,1])
```

```
#  $\text{err}(\text{inference}) = \text{poids M1} * \text{err (M1)} + \text{poids M2} * \text{err (M2)} + \text{poids M3} * \text{err (M3)}$ 
```

```
# on obtient  $\text{err (M1)}=0.07$ ,  $\text{err (M2)}=0.08$  et  $\text{err (M3)}= 0.08$ 
```

```
# on reprend les poids d'Akaike utilisés pour le calcul d'estimations par inférence.
```

```
 $\text{err}(\text{inference}) = \text{poids M1} * \text{err (M1)} + \text{poids M2} * \text{err (M2)} + \text{poids M3} * \text{err (M3)}$ 
```

```
# Soit :
```

```
 $\text{err}(\text{inference}) = 0.507*0.07 + 0.299*0.08 + 0.194*0.08 = 0.078$  #arrondi à 2 chiffres significatifs
```

**Annexe 11.** Définition du critère d'AICc.

$$AICc = -2 \times \log(L) + 2 \times p + \left[ \frac{2 \times p \times (p + 1)}{n - p - 1} \right]$$

$p$  est le nombre de coefficients du modèle, constante incluse

$n$  est le nombre de lignes de données sans données manquantes

$L$  est la fonction de vraisemblance:  $L(\vartheta|y)$  probabilité des observations  $y$  selon la valeur des coefficients  $\vartheta$  du modèle

**Annexe 12.** Formule de la fonction de lien logit.

$$\text{logit}(\mu) = \beta_0 + \sum_{i=1}^n \beta_i \times X_i$$
$$\mu = p/(1 - p)$$

$\beta_0$  intercept du modèle

$\beta_i$  coefficient de la différence entre le paramètre  $i$  et celui de l'intercept

$X_i$  variable  $i$  pour laquelle le paramètre diffère entre l'intercept et la modalité de  $p$

**Annexe 13.** Formule de la variance inconditionnelle associée à chaque estimation de l'inférence multimodèle.

$$\text{var}(\bar{\theta}) = \sum_{i=1}^R w_i [(\hat{\theta}_i - \bar{\theta}) + \text{var}(\hat{\theta}_i|M_i)]$$

$w_i$  poids d'Akaike du  $i$ ème modèle inclus dans l'inférence modèle

$\hat{\theta}_i$  estimation par le modèle  $i$  de la probabilité  $\theta$

$\bar{\theta}$  moyenne pondérée des  $R$  probabilités  $\theta$

$\text{var}(\hat{\theta}_i|M_i)$  variance du modèle  $i$  autour de l'estimation  $\hat{\theta}_i$  de la probabilité  $\theta$

**Annexe 14.** Prévalences apparentes par stade de maturité sexuelle sur les petits mammifères  
(x=nombre d'individus infectés, n=nombre de captures).

Sites	Site A		Site B	
	Immatures	Matures	Immatures	Matures
1	0.14, x=2 n=14 [0.04 ; 0.40]	0.08, x=2 n=25 [0.02 ; 0.25]	0, x=0 n=4 [0 ; 0.49]	0.3, x=3 n=10 [0.11 ; 0.60]
2	1, x=1 n=1 [0.21 ; 1]	0, x=0 n=3 [0 ; 0.56]	0.25, x= 2 n=8 [0.07 ; 0.59]	0.5, x=1 n=2 [0.09 ; 0.91]
3	0.14, x=1 n=7 [0.03 ; 0.51]	0, x=0 n=5 [0 ; 0.43]	0.14, x=1 n=7 [0.03 ; 0.51]	0.29, x=2 n=7 [0.08 ; 0.64]
4	0, x=0 n=2 [0 ; 0.66]	0.22, x=2 n=9 [0.06 ; 0.55]	0, x=0 n=1 [20,65 ; 100]	0, x=0 n=1 [20,65 ; 100]
5	0.17, x=1 n=6 [0.03 ; 0.56]	0.17, x=1 n=6 [0.03 ; 0.56]	0, x=0 n=3 [0 ; 0.56]	0.18, x=2 n=11 [0.05 ; 0.48]
6	1, x=2 n=2 [0.34 ; 1]	0.33, x=1 n=3 [0.06 ; 0.79]	0, x=0 n=3 [0 ; 0.56]	0.67, x=2 n=3 [0 ; 0.49]
7	0.33, x=1 n=3 [0.06 ; 0.79]	1, x=1 n=1 [0.21 ; 1]	0.28, x=5 n=18 [0.12 ; 0.51]	0, x= 0 n=4 [0 ; 0.43]
Toutes sessions	0.2, x=7, n=35 [0.10 ; 0.36]	0.13, x=7, n=52 [0.07 ; 0.25]	0.18, x=8, n=44 [0.1 ; 0.32]	0.26, x=10, n=38 [0.15 ; 0.42]



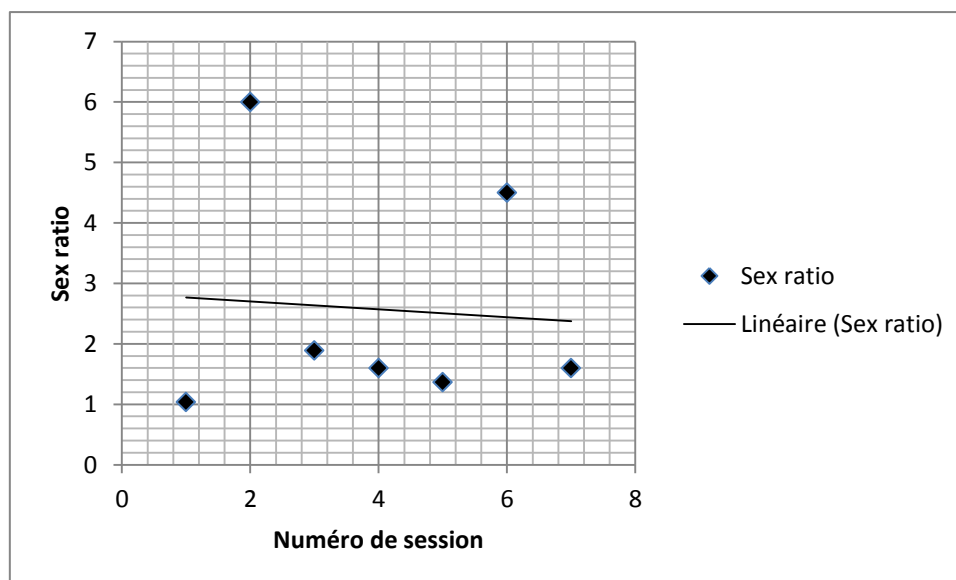
**Annexe 15.** Prévalences apparentes par espèces de petits mammifères (x=nombre d'individus infectés, n=nombre de captures).

<b>Site A</b>	<b>Session</b>	<b>Mulot</b>	<b>Campagnol</b>	<b>Crocidure</b>	<b>Total</b>
	1	0.11, x=2 n=19 [0.03 ; 0.31]	0.08, x=1 n=13 [0.01 ; 0.33]	0.14, x=1 n=7 [0.03 ; 0.51]	0.10, x=4 n=39 [0.04 ; 0.24]
	2	0.33, x=1 n=3 [0.06 ; 0.79]	0, x=0 n=1 [0 ; 0.79]	NR	0.25, x=1 n=4 [0.46 ; 0.70]
	3	0.1, x=1 n=10 [0.02 ; 0.40]	0, x=0 n=2 [0 ; 0.66]	NR	0.08, x=1 n=12 [0.15 ; 0.35]
	4	0.5, x=2 n=4 [0.15 ; 0.85]	0, x=0 n=7 [0 ; 0.35]	NR	0.18, x=2 n=11 [0.05 ; 0.48]
	5	0.29, x=2 n=7 [0.08 ; 0.64]	0, x=0 n=4 [0 ; 0.49]	1, x=1 n=1 [0.21 ; 0.1]	0.25, x=3 n=12 [0.09 ; 0.53]
	6	0.6, x=3 n=5 [0.23 ; 0.88]	NR	NR	0.6, x=3 n=5 [0.23 ; 0.88]
	7	1, x=1 n=1 [0.21 ; 0.1]	NR	0.33, x=1 n=3 [0.06 ; 0.79]	0.5, x=2 n=4 [0.15 ; 0.85]
	Toutes sessions	0.25, x=12, n=49 [0.15 ; 0.38]	0.04, x=1, n=27 [0.01 ; 0.18]	0.27, x=3, n=11 [0.10 ; 0.57]	0.18, x=16, n=87 [0.11 ; 0.28]
	<b>Site B</b>	<b>Session</b>	<b>Mulot</b>	<b>Campagnol</b>	<b>Crocidure</b>
1		0.21, x=3 n=14 [0.08 ; 0.48]	NR	NR	0.21, x=3 n=14 [0.08 ; 0.48]
2		NR	0.4, x=4 n=10 [0.17 ; 0.69]	NR	0.4, x=4 n=10 [0.17 ; 0.69]
3		0.25, x=1 n=4 [0.46 ; 0.70]	0.3, x=3 n=10 [0.11 ; 0.60]	NR	0.29, x=4 n=14 [0.12 ; 0.55]
4		NR	0, x=0 n=2 [0 ; 0.66]	NR	0, x=0 n=2 [0 ; 0.66]
5		0.2, x=2 n=10 [0.06 ; 0.51]	0, x=0 n=3 [0 ; 0.56]	0, x=0 n=1 [0 ; 0.79]	14,29%, x=2n=14 [4 ; 39,94]
6		0.17, x=1 n=6 [0.03 ; 0.56]	NR	NR	0.17, x=1 n=6 [0.03 ; 0.56]
7		0, x=0 n=3 [0 ; 0.56]	NR	0.26, x=5 n=19 [0.12 ; 0.49]	0.23, x=5 n=22 [0.10 ; 0.43]
Toutes sessions		0.19, x=7, n=37 [0.95 ; 0.34]	0.27, x=7, n=26 [0.14 ; 0.46]	0.25, x=5, n=20 [0.12 ; 0.47]	0.23, x=19, n=82 [0.15 ; 0.33]

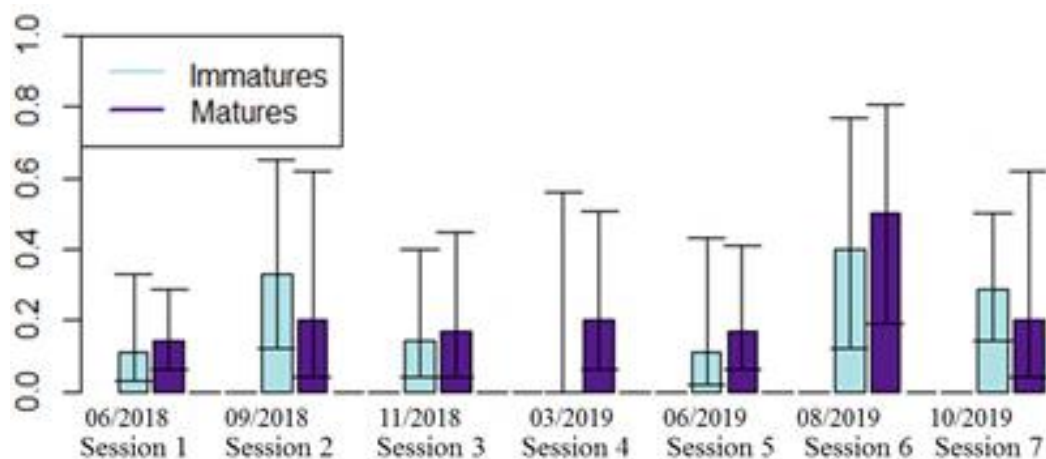
**Annexe 16.** Prévalences apparentes par sexe des petits mammifères (x=nombre d'individus infectés, n=nombre de captures).

Sites	Site A		Site B	
	Mâles	Femelles	Mâles	Femelles
1	0.16, x=3 n=19 [0.06 ; 0.38]	0.05, x=1 n=20 [0.01 ; 0.24]	0.25, x= 2 n=8 [0.07 ; 0.59]	0.17, x=1 n=6 [0.03 ; 0.56]
2	0.5, x=1 n=2 [0.09 ; 0.91]	0, x=0 n=2 [0 ; 0.66]	0.4, x=4 n=10 [0.17 ; 0.69]	NR
3	0.14 x=1 n=7 [0.03 ; 0.51]	0%, x=0 n=5 [0 ; 0.43]	0.4, x=4 n=10 [0.17 ; 0.69]	0, x=0 n=4 [0 ; 0.66]
4	0.25, x=2 n=8 [7,15 ; 59,07]	0%, x=3 n=3 [0 ; 56,15]	NR	0, x=0 n=2 [0 ; 0.49]
5	0, x=0 n=7 [0 ; 0.35]	0.4, x=2 n=5 [0.12 ; 0.77]	0, x=0 n=8 [0 ; 32,44]	0.33, x=2 n=6 [0.1 ; 0.7]
6	0.75, x=3 n=4 [0.30 ; 0.95]	0, x=0 n=1 [0 ; 0.79]	0.4, x=2 n=5 [0.12 ; 0.77]	0, x=0 n=1 [0 ; 0.79]
7	0.67, x=2 n=3 [0.21 ; 0.94]	0, x=0 n=1 [0 ; 0.79]	0.31, x=4 n=13 [0.13 ; 0.58]	0.09, x=1 n=11 [0.02 ; 0.38]
Toutes sessions	22,03% x=13, n=50 [13,35 ; 34,12]	13,51% x=6, n=37 [5,91 ; 27,98]	0.3, x=16, n=54 [0.19 ; 0.43]	0.14, x=4, n=28 [0.06 ; 0.31]

**Annexe 17.** Sex ratio des petits mammifères capturés au cours des sessions.

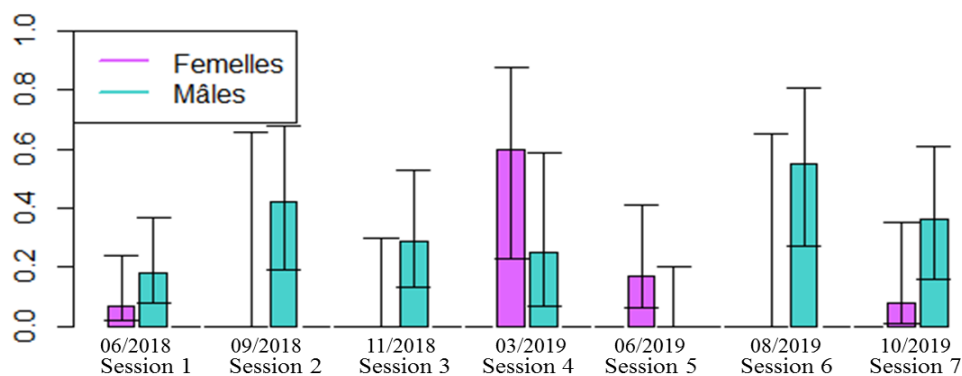


**Annexe 18.** Représentation graphique des prévalences apparentes par stade de maturité des petits mammifères au cours des sessions (immatures, matures).



**Annexe 19.** Représentation graphique des prévalences apparentes par sexe des petits mammifères au cours des sessions (femelles, mâles).

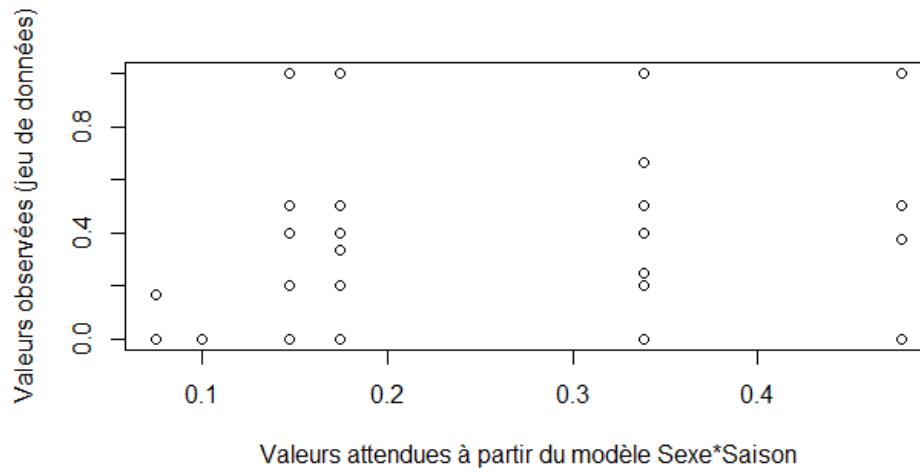
**Proportions de mâles et femelles infectés au cours des sessions**



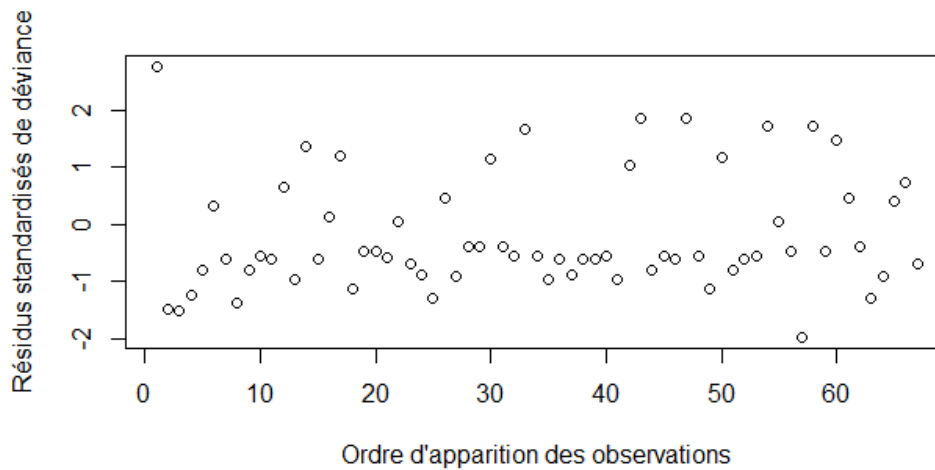
**Annexe 20.** Sélection par AICc à partir d'un ensemble de 19 modèles de régression logistique à réduction de biais (régressions logistiques de Firth).

<b>Numéro de modèle</b>	<b>Combinaison de variables explicatives du modèle</b>	<b>Nombre de paramètres</b>	<b>AICc</b>	<b>deltaAICc</b>	<b>Poids d'Akaike</b>
M1	Sexe* Saison	6	111.78	0	0.280
M2	Sexe * Saison + Espèce	8	112.75	0.97	0.165
M3	Sexe+Saison	4	114.73	2.96	0.107
M4	Sexe	2	114.98	3.21	0.095
M5	Stade + Espèce + Saison *Sexe	9	115.25	3.58	0.083
M6	Sexe * Saison + Site	7	115.25	3.48	0.079
M7	Espèce + Site + Saison *Sexe	9	115.42	3.64	0.062
M8	Saison	3	115.82	4.05	0.042
M9	Site	2	117.49	5.72	0.022
M10	Session	7	117.90	6.12	0.018
M11	Nul	1	118.25	6.47	0.010
M12	Sexe * Site + Saison	6	119.33	7.55	0.010
M13	Stade	2	120.02	8.24	0.008
M14	Site + Saison + Espèce	6	120.11	8.34	0.008
M15	Espèce	3	120.87	9.10	0.007
M16	Stade * Saison	6	120.90	9.12	0.005
M17	Espèce * Site + Saison	8	121.92	10.14	0.005
M18	Site + Saison * Espèce	9	124.13	12.35	0.003
M19	Espèce * Site + Saison *Espèce	11	128.68	16.90	0.001

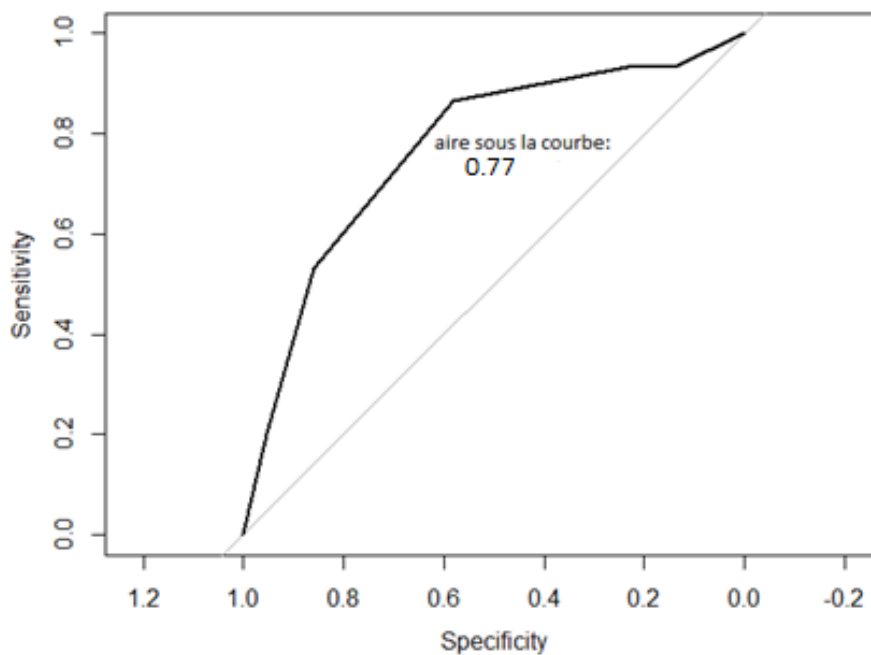
**Annexe 21.** Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs attendues par le modèle de régression logistique de Firth « Sexe\*Saison ».



**Annexe 22.** Graphique des résidus de déviance standardisés en fonction de l'ordre d'apparition des observations pour le modèle de régression logistique de Firth « Sexe\*Saison ».



**Annexe 23.** Courbe ROC du modèle de régression logistique de Firth « Sexe\*Saison ».



**Annexe 24.** Estimations des proportions d'individus infectés attendues par le modèle de régression logistique de Firth « Sexe\*Saison ».

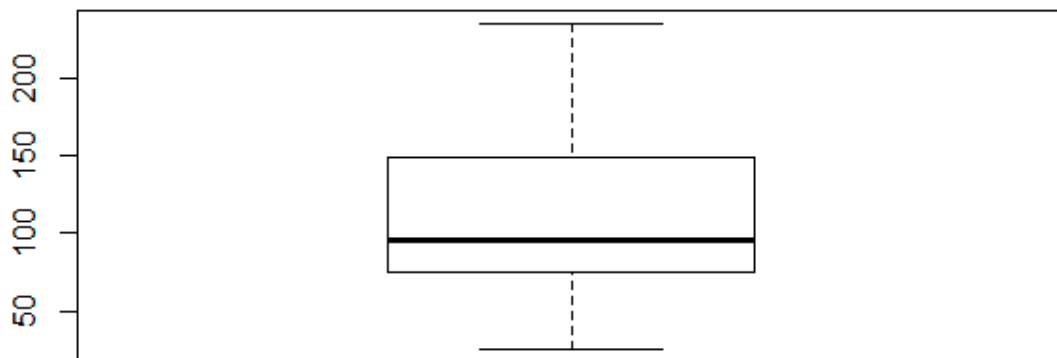
Modalité définie sur Sexe et Saison	Estimation de la probabilité d'infection par le modèle Sexe*Saison	Borne inférieure de l'intervalle de confiance à 95%	Borne supérieure de l'intervalle de confiance à 95%	Largeur de l'intervalle de confiance
Mâle en automne	0,34	0,32	0,36	0.05
Femelle en automne	0,08	0,02	0,23	0.21
Mâle au printemps	0,15	0,12	0,18	0.06
Femelle au printemps	0,17	0,14	0,21	0.07
Mâle l'été	0,48	0,44	0,51	0.07

**Annexe 25.** Estimations issues de l'inférence multimodèle (cr= crocidure, ca=campagnol, mul=mulot ; imm=immature, mat=mature ; A=site A, B=site B).

Modalité définie sur Sexe, Espèce, Saison, Stade et Site	Estimation de la probabilité d'infection par inférence multimodèle	borne inférieure de l'intervalle de confiance à 95%	borne supérieure de l'intervalle de confiance à 95%
mâle ca aut imm A	0,27	0,05	0,73
mâle ca aut mat A	0,28	0,05	0,74
mâle ca aut imm B	0,26	0,05	0,73
mâle ca aut mat B	0,27	0,05	0,73
femelle ca aut imm B	0,09	0,01	0,41
femelle ca aut mat B	0,09	0,01	0,41
mâle cr aut imm A	0,35	0,06	0,81
mâle cr aut imm B	0,35	0,06	0,81
femelle cr aut imm B	0,11	0,02	0,47
femelle cr aut mat B	0,11	0,02	0,46
mâle mul aut imm A	0,32	0,06	0,78
mâle mul aut mat A	0,33	0,06	0,79
mâle mul aut imm B	0,32	0,06	0,78
mâle mul aut mat B	0,33	0,06	0,78
femelle mul aut imm A	0,12	0,02	0,50
femelle mul aut mat A	0,14	0,02	0,52
femelle mul aut mat B	0,13	0,02	0,52
mâle ca pr imm A	0,16	0,03	0,58
mâle ca pr mat A	0,16	0,03	0,58
mâle ca pr mat B	0,16	0,03	0,58
femelle ca pr imm A	0,14	0,02	0,55
femelle ca pr mat A	0,15	0,02	0,55
femelle ca pr imm B	0,14	0,02	0,55
femelle ca pr mat B	0,15	0,02	0,55
mâle cr pr imm A	0,21	0,03	0,67
mâle cr pr imm B	0,21	0,03	0,67
male cr pr imm A	0,21	0,03	0,67
femelle cr pr imm A	0,17	0,03	0,61

Modalité définie sur Sexe, Espèce, Saison, Stade et Site	Estimation de la probabilité d'infection par inférence multimodèle	borne inférieure de l'intervalle de confiance à 95%	borne supérieure de l'intervalle de confiance à 95%
femelle cr pr mat A	0,18	0,03	0,62
mâle mul pr imm A	0,21	0,04	0,66
mâle mul pr mat A	0,20	0,03	0,65
mâle mul pr imm B	0,21	0,04	0,66
mâle mul pr mat B	0,20	0,03	0,65
femelle mul pr imm B	0,16	0,03	0,58
femelle mul pr mat B	0,16	0,03	0,58
mâle ca été imm B	0,44	0,09	0,87
mâle ca été mat B	0,47	0,10	0,88
mâle mul été imm A	0,46	0,08	0,89
mâle mul été mat A	0,49	0,09	0,90
mâle mul été imm B	0,46	0,08	0,89
mâle mul été mat B	0,49	0,09	0,90

**Annexe 26.** Distribution du pourcentage d'incertitude lié à la sélection de modèles de l'inférence multimodèle.

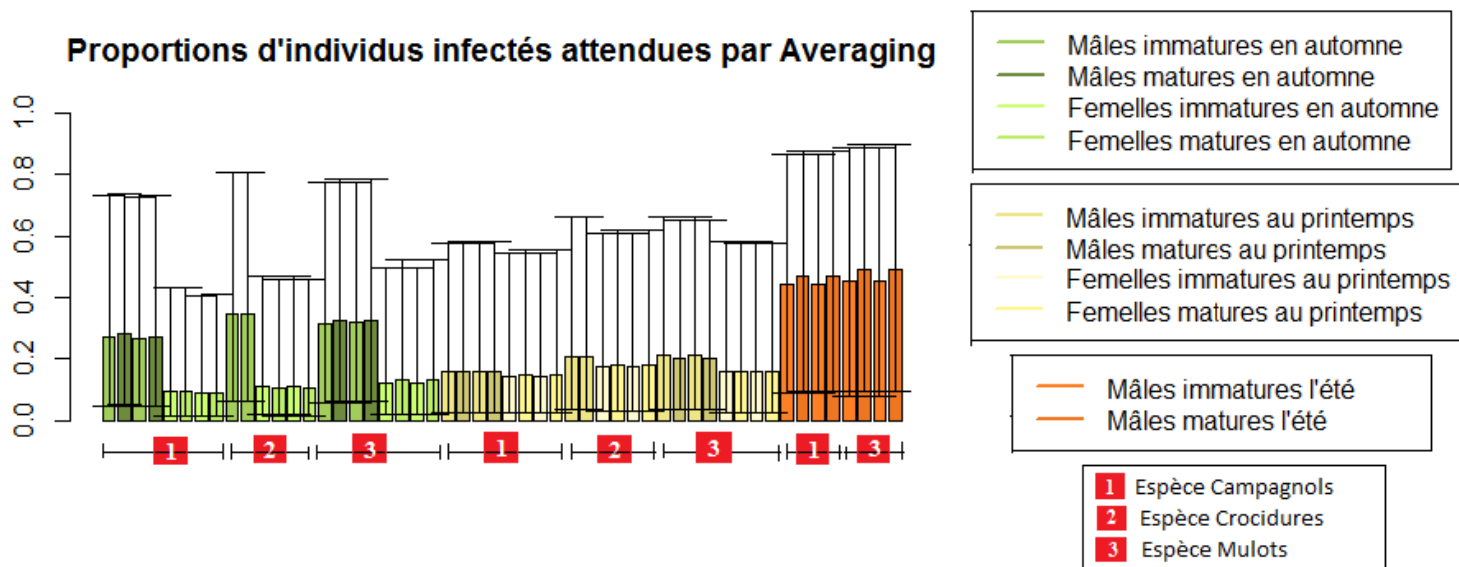




**Annexe 27.** Exemple de modalités à pourcentages d'incertitude élevés sur les estimations issues de l'inférence multimodèle.

modalité pour l'événement « être infecté »	estimation par régression logistique de Firth Sexe*Saison	estimation par inférence multimodèle	erreurs standards associées aux estimations par inférence	pourcentage d'incertitude ajouté par l'inférence multimodèle
mâle campagnol mature en automne au site B	0.34	0.28	0.12	75.1
mâle campagnol mature en automne au site B	0.34	0.27	0.13	86.5
mâle crocidure immature en automne au site A	0.34	0.35	0.21	197.11
mâle crocidure immature en automne au site B	0.34	0.35	0.21	195.6

**Annexe 28.** Représentation graphique des estimations issues de l'inférence multimodèle.







**HER Rebecca**

**ECOLOGIE ET CARACTERISATION DE L'INFECTION PAR LEPTOSPIRA EN POPULATIONS DE MAMMIFERES SAUVAGES ISSUES DE SITES D'ELEVAGE DE RUMINANTS : ENQUETE DE TERRAIN EN REGION RHONE-ALPES, DE 2018 A 2020**

Thèse d'Etat de Doctorat Vétérinaire : Lyon, le 11 septembre 2020

**RESUME :** La leptospirose est une zoonose bactérienne avec un enjeu en santé humaine et animale. Certaines espèces sauvages auraient un rôle de réservoir dans l'infection des élevages bovins par *Leptospira*. Des méthodes de PCR et de séquençage partiel ont été utilisées pour analyser les échantillons de 87 mulots, 51 campagnols, 31 crocidures, 35 ragondins et 10 fouines en lien avec des zones d'élevage (Rhône). La prévalence de l'infection était de 22% (IC<sub>95%</sub> [11% ; 29%]) pour les petits mammifères et celle des fouines et ragondins de 21% (IC<sub>95%</sub> [10% ; 38%]). Les espèces bactériennes identifiées étaient *L. interrogans* et *L. kirschneri*, toutes deux pathogènes. La première, uniquement identifiée sur le genre *Apodemus*, suggère un portage sélectif de *L. interrogans* parmi cette population. Une analyse des caractéristiques des petits mammifères infectés suggère une probabilité d'infection plus élevée l'été pour les individus mâles. Ces résultats originaux en France orientent de futures études sur le risque d'infection à l'interface des faunes sauvage et domestique.

**MOTS CLES :**

- Leptospires
- Rongeurs
- Bovins – Elevage
- Maladies infectieuses
- Epidémiologie
- Ecologie animale

**JURY :**

Président : Monsieur le Professeur Bruno SALLE

1er Assesseur : Madame le Docteur Florence AYRAL

2ème Assesseur : Monsieur le Docteur Gilles BOURGOIN

**DATE DE SOUTENANCE :** 11 septembre 2020